Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

WIRKUNG EINER TOXISCHEN SUBSTANZ AUS VERBRANNTER MÄUSEHAUT AUF DEN KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL DER LEBER DES KANINCHENS

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von

MICHAEL MEYER
aus Nürnberg

1980

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

WIRKUNG EINER TOXISCHEN SUBSTANZ AUS VERBRANNTER MÄUSEHAUT AUF DEN KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL DER LEBER DES KANINCHENS

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von

MICHAEL MEYER
aus Nürnberg

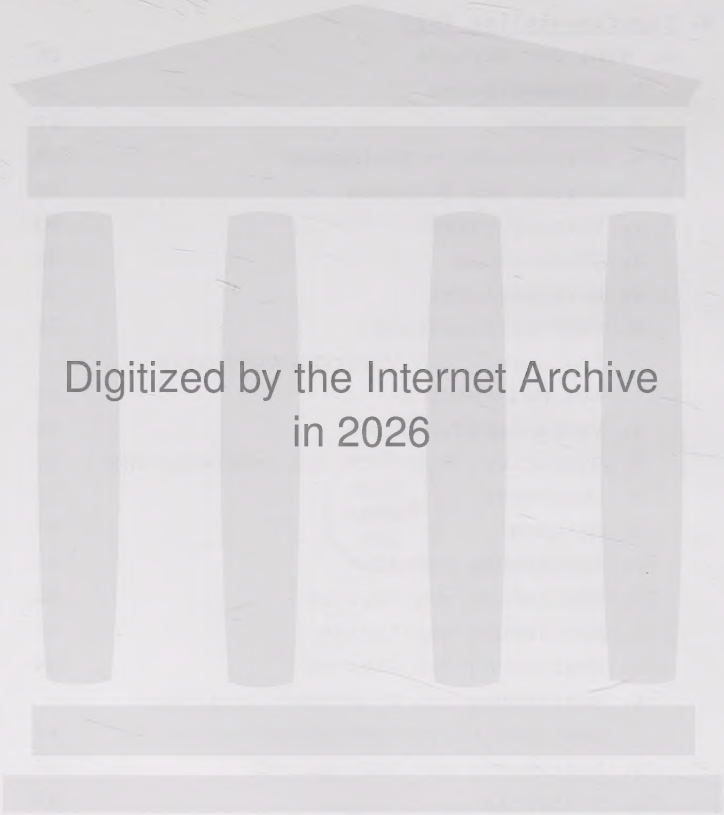
1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. H. Heimann
Berichterstatter:	Privatdozent Dr. Dr. K. Schmidt (Professor Dr. L. Koslowski) Professor Dr. J. Hausdörfer

Inhaltsverzeichnis Seite

A. Einleitung
1. Allgemeine Grundlagen 1
2. Verbrennungstoxine 3
3. Problemstellung und Ausgangspunkt 7
4. Kohlenhydratstoffwechsel in der Leber 18
B. Experimenteller Teil
a) Wahl der Methode 26
1. Organentnahme 26
2. Narkose 27
3. Vorversuche - Toxinmenge 29
b) Material und Methoden 30
1. Versuchstiere 30
2. Chemikalien 32
3. Narkosemittel 32
4. Gefrierstoppzange 32
5. Isolierung des Verbrennungstoxins aus Mäusehaut 33
6. Versuchsbedingungen 36
7. Operativer Eingriff und Organentnahme 37
8. Obduktion 39
9. Mörsern 41
10. Bestimmung von ATP 41
11. Bestimmung von Pyruvat 42
12. Bestimmung von Lactat 43
13. Bestimmung von Glucose 44
14. Bestimmung von Fructose-1.6-diphosphat und Dihydroxyacetonphosphat 44
15. Bestimmung von ADP und AMP 46
16. Statistik 47
C. Ergebnisse 49
D. Diskussion 67
E. Zusammenfassung 76
F. Abkürzungen 78
G. Literaturverzeichnis 79


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548919_0040

A. Einleitung

1. Allgemeine Grundlagen

Auf keinem medizinischen Gebiet - mit Ausnahme der Krebsforschung - ist laut KERNAHAN (1967) mehr Forschungsarbeit geleistet worden, als auf dem der Verbrennung. Trotz intensivster Bemühungen in Forschung und Klinik wirft die Behandlung schwerverbrannter Patienten noch immer eine Reihe ungelöster Probleme auf.

In der Frage des therapeutischen Vorgehens bei schweren Verbrennungen stellen sich zwei Problemkreise von höchster Bedeutsamkeit (KOSLOWSKI 1970, SCHOENENBERGER et al. 1976):
Einmal: Die Verhütung oder Behandlung des Verbrennungsschocks, der schwersten Schockform in der Klinik.
Zum anderen: Die Behandlung der Verbrennungskrankheit, die nach Überwindung der Schockphase auftritt.

Die Verbrennungskrankheit zeichnet sich initial durch eine weitere Schockgefahr aus, verursacht durch Hypoproteinämie und Rückresorption der bakteriellen Toxine und der Verbrennungstoxine (SAUR et al.1976).

Die Spätphase der Verbrennungskrankheit verläuft meist unter dem Bild einer schwer zu beherrschenden Sepsis. Während in früheren Jahren der Großteil der Patienten in der Schockphase starb, hat sich in den letzten Jahren die Letalität von der Schockphase in die Spätphase der Verbrennungskrankheit verlagert; die Gesamtletalität konnte jedoch nicht wesentlich gesenkt werden (KOSLOWSKI 1963, MÜLLER 1965).

BAXTER (1974) kommt für die Situation der Verbrennungskrankheit auf Grund einer Sammelstatistik von 7638 Fällen zur Feststellung, daß die Letalität in

den letzten 6 Jahren keine Besserung erfahren hat, obwohl an den Problemen in Klinik und Forschung intensiv gearbeitet wurde.
Nach KRIZEK und COSSMAN (1972) stellen die letzten beiden Jahrzehnte die "septische Periode" in der Behandlung der Verbrennungskrankheit dar. Die Schwerverbrannten sterben nach Überwindung der Schockphase an einer Spätsepsis, bei der pathologisch-anatomisch eine lokalisierte oder häufiger eine generalisierte Sepsis nachgewiesen werden kann (ALLGÖWER et al. 1973). Besondere Bedeutung muß in der Frage der Sepsis dem "Wandel der Infektion als Krankheitsfaktor und Todesursache" (KOSLOWSKI 1963) zugemessen werden. Während früher grampositive Erreger wie Streptokokken und Staphylokokken dominierten, rücken seit deren Beherrschung immer mehr gramnegative Erreger wie Pseudomonas und Proteus, aber auch Pilze in den Vordergrund des klinischen Geschehens. Von den Pathologen wird in über 70% der letalen Sepsisfälle nach einer Verbrennung eine Infektion mit Pseudomonas aeruginosa gefunden (FELLER und PIERSON 1970).

Das Hauptanliegen der Verbrennungsforschung ist somit jetzt die Spätletalität, bei der die Kranken meist einer therapieresistenten Sepsis erliegen. Versuche mit multivalenten Vaccinen (SACHS 1970), mit Rekonvaleszentenserum (FEDOROV 1962), mit aktiver Immunisierung (JONES 1966), mit spezifischer aktiver und passiver Immuntherapie (ALEXANDER 1971), sowie mit heterologen Antiseren (ROSENTHAL 1966) konnten ebensowenig die hohe Sterberate in der Spätphase der Verbrennung senken, wie die Immunisierung mit univalenter Pseudomonasvaccine und heterologem Antipseudomonasserum (FELLER und PIERSON 1968 und 1970).

Die Sepsis, die in den Autopsiebefunden im Vorder-

grund steht, scheint eher auf einer Vorschädigung des Wirtes als auf einer erhöhten Virulenz der beteiligten Bakterien zu beruhen (PRUITT et al. 1967). Seit Jahren fanden deshalb - trotz kritischer Einwände (SEVITT 1973) - Veröffentlichungen über das sogenannte Verbrennungstoxin wachsende Aufmerksamkeit. Dieses Toxin soll bei der Verbrennung in der Haut entstehen, ab dem 3. bzw. 4. Tag resorbiert werden und eine Schwächung der Infektionsresistenz bewirken (SCHOENENBERGER et al. 1976). Die Baseler Forschungsgruppe (ALLGÖWER, SCHOENENBERGER u.a.) glaubt Beweise dafür gefunden zu haben, daß die Infektion erst auf dem Boden der Allgemeinschädigung durch das Toxin ihre fatale Wirkung entfalten kann. SCHOENENBERGER, ALLGÖWER et al. (1976) weisen besonders darauf hin, daß Antikörper, die nicht gegen die Pseudomonaskeime, sondern gegen das spezifische, bei der Verbrennung entstehende Toxin gebildet werden, nicht nur gegen dieses Toxin schützen, sondern auch das Angehen einer Infektion verhindern.

2. Verbrennungstoxine

In der Verbrennungsforschung spielen Untersuchungen über die Verbrennungstoxine, die in der Intoxikationsphase der Verbrennungskrankheit resorbiert werden, eine bedeutende Rolle:

a.) BAXTER und Mitarbeiter fanden bei experimenteller und bei klinischer Verbrennung einen Faktor, der die Kontraktilität des Herzmuskels im Tierversuch und am isolierten Herzpräparat herabsetzt; auch bei schwerverbrannten Patienten konnte die depressorische Wirkung dieses Faktors nachgewiesen werden (BAXTER et al.

1966 und 1971). Bei Infusion von Plasma verbrannter und verbrühter Tiere nahm beim unverbrannten Empfängertier das Herzminutenvolumen deutlich ab.
Dieser "myocardial depressant factor" ist nach den vorliegenden Erkenntnissen nicht unter den bekannten vasoaktiven Stoffen zu finden; er erscheint am häufigsten bei Verbrennungen großen Ausmaßes. Zu dem Grad der Verbrennung liegt eine semiquantitative Beziehung vor.
Die bisher gewonnen Einsichten lassen BAXTER zu der Auffassung gelangen, daß dieser Faktor in der Schockphase der Verbrennung kontraktilitätsmindernd wirkt und trotz Volumensubstitution eine Abnahme des Herzminutenvolumens zur Folge hat.

b.) Wie BAXTER fordert auch ROSENTHAL einen Faktor, der bei der Verbrennung entsteht und myocardspezifisch wirkt (ROSENTHAL et al. 1968 und 1972).
Der toxische Verbrennungsfaktor konnte in verbrühter und verbrannter menschlicher Haut nachgewiesen werden.
Das Verbrennungstoxin zeigte letale Wirkung gegenüber Mäusen; weiterhin erwies sich in Gewebekulturen die toxische Wirkung auf HeLa und HEP_2 Zellen.
Die gereinigte Form des Toxins - ein Glykoprotein - hat nach den vorliegenden Erkenntnissen Antigencharakter; als Zielorgan wurde das Myocard bestimmt.
Nach ROSENTHAL stört das Toxin die Interaktion zwischen Myosin,Aktin und ATP und wirkt so als Inhibitor der muskulären Kontraktion. Als Folge dieser Inhibition traten beim Menschen abnorme EKG`s auf, mit Senkung der T-Welle und Spaltung des QRS-Komplexes. Im Lichtmikroskop wie im Elektronenmikroskop fanden sich Austritt von Blut und strukturelle Veränderungen.
Das beschallte Toxin, das sogenannte Competitin, schützt im Mäuseversuch vor dem letalen Effekt des Toxins.

Wie das Toxin hat auch das Competitin eine inhibitorische Wirkung, jedoch in einem weit geringeren Ausmaß. Der inhibitorische Effekt des Toxins reduziert sich bei vorheriger Gabe des Competitins beträchtlich. Es wird vermutet, daß der toxische Faktor und das Competitin um dieselben Rezeptoren am Myocard konkurrieren.

c.) In den Arbeiten der Moskauer Forschungsgruppe um FEDOROV und Mitarbeiter wurden die bei der Verbrennung enstehenden toxischen Produkte, insbesondere die hochmolekularen Eiweißfraktionen untersucht. Die aus verbrannter Haut isolierten hochmolekularen Eiweißfraktionen konnten in normaler Haut nicht gefunden werden (FEDOROV et al. 1974).
Antigene Eigenschaften normaler und verbrannter Haut wurden mit den Methoden der Anaphylaxie und der Desensibilisierung nachgewiesen; die Spezifität der Verbrennungstoxine sowie ihrer Antikörper wurde in mehreren immunologischen Versuchen untersucht,blieb jedoch ungeklärt (MOVSHEV 1971).
In Versuchen mit Mäusen wurden - unter Blockade des reticulo-endothelialen Systems - die toxischen Eigenschaften der aus verbrannter Haut isolierten hochmolekularen Eiweißfraktionen analysiert. Dabei konnte eine Abhängigkeit der Toxizität dieser Fraktionen vom Eiweißgehalt aufgezeigt werden (FEDOROV et al. 1974).

d.)Zu ähnlichen Ergebnissen kommen die Baseler Forscher (ALLGÖWER,SCHOENENBERGER u.a.). Ihnen gelang es, aus "in vitro" verbrannter Menschen- und Mäusehaut ein spezifisches Verbrennungstoxin, bestehend aus einem toxischen Lipid-Proteinkomplex zu isolieren und zu

charakterisieren (SCHOENENBERGER et al. 1969 und 1970). Durch paralleles Aufarbeiten nativer Haut konnte eine, in Bezug auf die Lipid- und Proteinkomponenten gleichartig aufgebaute, jedoch nichttoxische Substanz isoliert werden. Bei gleicher elektrischer Ladungsdichte unterscheidet sich der toxische Lipid-Proteinkomplex von seinem nichttoxischen Analogen durch größere Dichte und um ein Mehrfaches höheres Molekulargewicht; das Molekulargewicht für das Toxin beträgt $3x10^6$ Dalton, für das Nativ $1x10^6$ Dalton (CUENI et al. 1970).

Als Entstehungsmodus dieses Verbrennungstoxins wurde die hitzeinduzierte Trimerisierung einer monomeren, in ungeschädigter Haut vorkommenden, nichttoxischen Vorstufe postuliert (CUENI et al. 1970). Auf Grund des Isolierungsverfahrens und der chemischen Zusammensetzung wurden Strukturelemente von Membranen als Ursprungsort der Substanzen vorgeschlagen (SCHOENENBERGER et al. 1971).

Für die Toxizität wird die Toxin-Proteinfraktion verantwortlich gemacht; der Lipidanteil soll auf unspezifische Weise zur Toxizität beitragen. Die bakterielle Kontamination als Ursache der toxischen Wirkung verbrannter Haut wurde durch die Verwendung keimfrei aufgezogener Mäuse ausgeschlossen (CUENI et al. 1971).

Das hochmolekulare Toxin wirkt auf Empfängertiere letal. Radioaktive Markierungen der toxischen und der nichttoxischen Lipid-Proteinkomplexe konnten als Hinweis für mögliche Angriffspunkte im Organismus dienen. Dabei zeigte sich, daß das Toxin eine große Affinität zu verschiedenen Organen hat; beim Nativkomplex hingegen ließ sich kaum ein Affinitätsnachweis zu irgendwelchen Geweben erbringen (SCHOENENBERGER et al. 1976). Die Wirkungsweise des toxischen Komplexes ist noch nicht

genau bekannt. Möglicherweise liegt eine generalisierte Zellmembranschädigung vor. Eine Beeinflußung der Blutgerinnung, die in der Literatur wiederholt als Folge einer durch Verbrennung induzierten Toxämie beschrieben wird (SEVITT 1966), kann für diese Substanz angeblich ausgeschlossen werden (CUENI et al. 1971). Durch vergleichende physikalisch-chemische Untersuchungen wurde nachgewiesen, daß das aus verbrannter Haut und das aus Patientenserum gewonnene Toxin sowie die Vorstufen praktisch identisch sind (SCHOENENBERGER et al. 1975).

An einem Verbrennungsmodell der Maus (STÄDTLER et al. 1972a) konnte eine signifikante Schutzwirkung sowohl der aktiven wie auch der passiven Immuntherapie mit menschlichem Verbrennungstoxin oder dem entsprechenden antitoxischen IgG bei letal verbrannten Tieren erzielt werden (STÄDTLER et al. 1972b und SCHOENENBERGER et al. 1974). Durch Injektion des isolierten Verbrennungstoxins kann bei der Maus die Mortalität nach einer Pseudomonasinfektion signifikant erhöht werden. Durch Behandlung mit spezifischem, gegen die Verbrennung gerichteten heterologen Serum wird diese Steigerung aufgehoben.

e.) Für die vorliegende Arbeit erfolgte die Isolierung des Verbrennungstoxins nach SCHOENENBERGER (1972) und SCHMIDT (1977).

3. Problemstellung und Ausgangspunkt

Die schwere thermische Schädigung ist die bei weitem größte Stressituation, der ein Organismus unterworfen

sein kann. Der Folgezustand ist gekennzeichnet durch Hypermetabolismus, schweren Proteinverlust und rapide Gewichtseinbuße. Kein anderer vergleichbarer Krankheitsprozess führt zu solch beschleunigtem Gewebsabbau und zu so einem tiefgreifenden Verlust an Energiereserven wie die schwere Verbrennung.

Das thermische Trauma bewirkt eine augenblickliche Freisetzung von Histamin, damit wird eine tiefgreifende Permeabilitätsstörung in Gang gebracht. Es kommt zu einem Ödem, Verlust von Wasser, Elektrolyten und Protein durch Wundexsudat, schließlich zum hypovolämischen Schock mit erheblicher Bluteindickung. Als wesentliche Punkte des Verbrennungsschocks sind die starke Bluteindickung und die Kreislaufzentralisation infolge der Katecholaminausschüttung hervorzuheben. Dem dank der modernen Infusionstherapie jetzt weitgehend beherrschbaren Verbrennungsschock folgt die Verbrennungskrankheit.

Zentrales Anliegen der Verbrennungsforschung ist es, die noch weitgehend ungeklärten Vorgänge während der Verbrennungskrankheit zu erforschen.
In diesem Zusammenhang spielen Untersuchungen über die Intoxikation mit Verbrennungstoxinen eine wesentliche Rolle.
Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, Stoffwechselveränderungen in der Leber von Kaninchen nach i.v. Injektion von Verbrennungstoxin zu untersuchen. Als Ausgangspunkt und Grundlage für die Diskussion der dabei gemessenen Metabolitkonzentrationen des Kohlenhydratstoffwechsels erscheint es angebracht, wichtige Resultate über metabolische Veränderungen, wie sie nach schweren Verbrennungen gefunden werden, anzuführen:

Nach der ersten Schock- und Ödemphase stellt sich nach dem 3. bzw. 4. Tag das Problem der Verbrennungs-

krankheit, welche durch eine weitere Schockgefahr infolge Hypoproteinämie und Rückresorption der bakteriellen Toxine und der Verbrennungstoxine gekennzeichnet ist (SAUR et al. 1976).

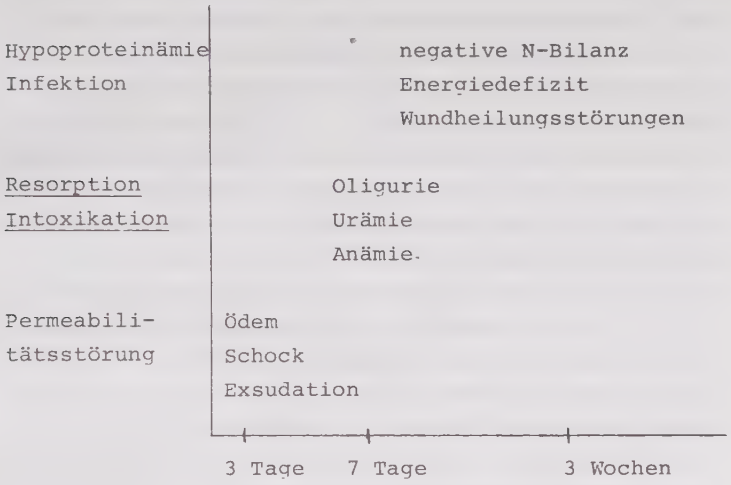


Abb. 1: Phasen der Verbrennungskrankheit
(KOSLOWSKI 1970)

Verbrennungsanämie, Oligurie, Urämie, Energie- und Stoffwechselstörungen infolge Katabolismus, Wärmeverlust und schließlich auch Sepsis, bedingt durch den Zusammenbruch der Abwehr charakterisieren den weiteren Verlauf der Verbrennungskrankheit.

Besondere Aufmerksamkeit verdient der Wärme- und Wasserverlust durch Verdunstung. Durch die thermische Schädigung wird die natürliche Barriere aus Lipoprotein

zerstört, die im Corium der Haut liegt und eine schrankenlose Wasserverdunstung verhindert; verbrannte Haut verhält sich daher wie eine freie Wasseroberfläche (KOSLOWSKI 1971). Die Verdunstung steigt auf ein Vielfaches der Norm, bei Verbrennungen von 30 bis 50% der Körperoberfläche auf 5 - 6 l/Tag. Durch die Verdunstung werden dem Körper große Mengen an Wärme entzogen, es ensteht ein Kaloriendefizit. Durch eine erhöhte Stoffwechselrate versucht der Organismus dieses Defizit auszugleichen.

Die Stoffwechselsituation nach einem Verbrennungstrauma ist durch einen signifikant gesteigerten Metabolismus gekennzeichnet (BAILEY et al. 1960, BATSTONE et al. 1976, BIRKE et al. 1957, KUKRAL et al. 1970, WILMORE et al. 1974). Die Katecholaminausschüttung korreliert zum Ausmaß der Verbrennung (AIKAWA 1975). Nach dem rapiden Anstieg ist der Katecholaminspiegel je nach Schwere der Verbrennung über einen längeren Zeitraum erhöht (BIRKE et al. 1957 und WILMORE et al. 1974). Gesteigerte Aktivität des sympathischen Nervensystems mit hoher Katecholaminausschüttung begegnet nicht nur nach Verbrennungen, sie tritt auch bei Infektionen (GROVES et al. 1973), nach operativen Eingriffen (STREMMEL 1973/74), bei Hypoxie (PORTE et al. 1973) und anderen Formen des Stresses auf (VIKTORIA et al. 1968).

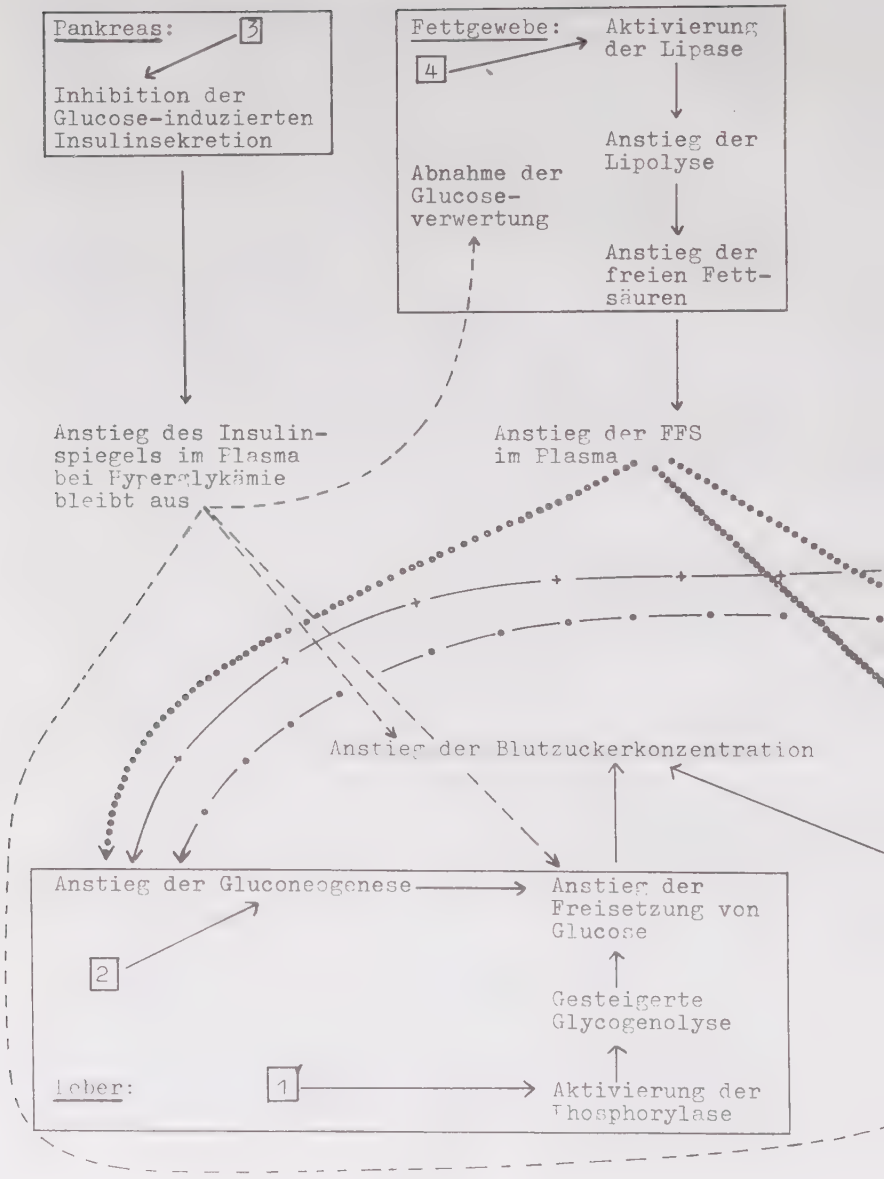
Verschiedene Autoren (HARRISON et al. 1964, MOYER 1962, ROE et al. 1964) setzen den gesteigerten Metabolismus , der sich im Anschluß an die Schockphase einstellt, in einen direkten Zusammenhang zur Verdunstungskälte. Der Hypermetabolismus wird als Reaktion auf gesteigerte Oberflächenabkühlung während angestiegenem evaporativen Wasserverlust verstanden. Der Wärmehaushalt des Körpers muß durch Steigerung der

Stoffwechselvorgänge, daneben auch durch Muskelzittern und hypothalamische Abkühlung (BROBECK 1955, KELLER 1956, KLEIBER 1961) aufrechterhalten werden. Experimentell wurde diese Modellvorstellung durch HARRISON (1964) untermauert. Von Bedeutung ist, daß der durch die Verdunstungskälte bedingte hohe energetische Verlust zu Lasten solch entscheidender Prozesse wie Wundheilung und Antikörperbildung geht.

Ein anderes Modell wird von ZAWACKI et al. (1970) vertreten. ZAWACKI konnte durch Ausschluß der Verdunstung den Nachweis erbringen, daß zwischen gesteigertem Stoffwechsel und Verdunstung keine kausale Verknüpfung besteht. Der Hypermetabolismus ist nicht wie im obigen Modell auf den hohen energetischen Verlust infolge gesteigerter Verdunstung zurückzuführen. WILMORE (1974) konnte zeigen, daß der evaporative Wasserverlust bei verbrannten Patienten nicht der primäre Stimulus für den gesteigerten Stoffwechsel ist. Vielmehr ist die Verbrennung selbst auslösender Faktor; sie steigert über neurale und/oder humorale Stimuli die Aktivität des sympathischen Nervensystems. Als Folge dieser Aktivitätssteigerung resultiert dann der gesteigerte Stoffwechsel.

Bei Verbrennungen bis zu etwa 50% der Körperoberfläche steigt der Stoffwechsel linear zum Grad der Verbrennung an. Der Stoffwechsel von Patienten mit noch größeren Verbrennungen erreicht ein Plateau mit maximaler oder annähernd maximaler Stoffwechseltätigkeit. Bei diesen Patienten konnte ein Absinken der Stoffwechselaktivität bei einer Umgebungstemperatur von 33^{o}C erreicht werden, sie lag jedoch immer weit über normalen Verhältnissen. Ferner konnte bei Patienten mit tiefgreifenden Verbrennungen durch Blockade der adrenergen alpha- und beta-Rezeptoren ein signifikanter Abfall der Stoffwechsel-

Aktivierung von cyclo-AMP führt zur Lipolyse, zu einem erhöhten Spiegel an freien Fettsäuren und Glycerin im Plasma (ALLISON et al. 1968, BIRKE et al. 1965, DOLECEK 1971, HUTH 1971). Der erhöhte Fettsäurespiegel im Plasma führt in der Leber zu einer Steigerung der Umsatzrate in der Beta-Oxidation, wodurch in verstärktem Maße Acetyl-CoA entsteht (BREMER und WOJTCZAK 1972). Weiterhin wird der Acetyl-CoA-Anstieg noch dadurch verstärkt, daß der Umsatz im Zitronensäurezyklus vermindert ist (DOLECEK und MAHAFFEY 1970). Durch die Hypoinsulinämie kommt es zur Hemmung der Zitratsynthetase durch Acyl-CoA-Thioester. Die erhöhte Fettsäurekonzentration führt zur Hemmung der Startreaktion der Fettsäuresynthese in der Leber und im Fettgewebe. Unter verstärkter Lipolyse, gesteigerter Beta-Oxidation, verminderter Fettsäuresynthese und gehemmtem Zitronensäurezyklus kommt es zu einer hohen Konzentration von Acetyl-CoA in der Leber; dies bewirkt in der Leber eine vermehrte Bildung von Ketonkörpern und Cholesterin. Da die Leber das Enzym Glycerokinase bezitzt, kann sie aus dem bei der Lipolyse anfallenden Glycerin Glycerin-3-phosphat bilden und damit die Ausgangsreaktion für eine gesteigerte Triglyceridsynthese in der Leber in Gang setzen.
3. Der erhöhte Katecholaminspiegel führt zu einer verminderten Freisetzung von Insulin aus dem Pankreas (MALAISSE und MALAISSE-LEGAE 1967, PORTE 1967, PORTE et al. 1966, SENF 1968), es kommt zu einer Hypoinsulinämie (HINTON et al. 1971). Es können freilich auch annähernd normale Insulinspiegel bei erhöhtem Glucosespiegel auftreten (DOLECEK et al. 1971, HESSMAN 1974). Dieses Verhalten in der akuten Schockphase wird auch als "burn stress pseudodiabetes" (ARNEY 1960) bezeichnet. In der Folgezeit findet man beim Glucose-Toleranz-Test eine überschießende Insulinfreisetzung bei flach ver-


Pankreas:
3
Inhibition der Glucose-induzierten Insulinsekretion
Fettgewebe:
4
Aktivierung der Lipase
Anstieg der Lipolyse
Anstieg der freien Fettsäuren
Abnahme der Glucose-verwertung
Anstieg des Insulinspiegels im Plasma bei Hyperglykämie bleibt aus
Anstieg der FFS im Plasma
Anstieg der Blutzuckerkonzentration
Anstieg der Gluconeogenese
2
Anstieg der Freisetzung von Glucose
Gesteigerte Glycogenolyse
Leber:
1
Aktivierung der Phosphorylase

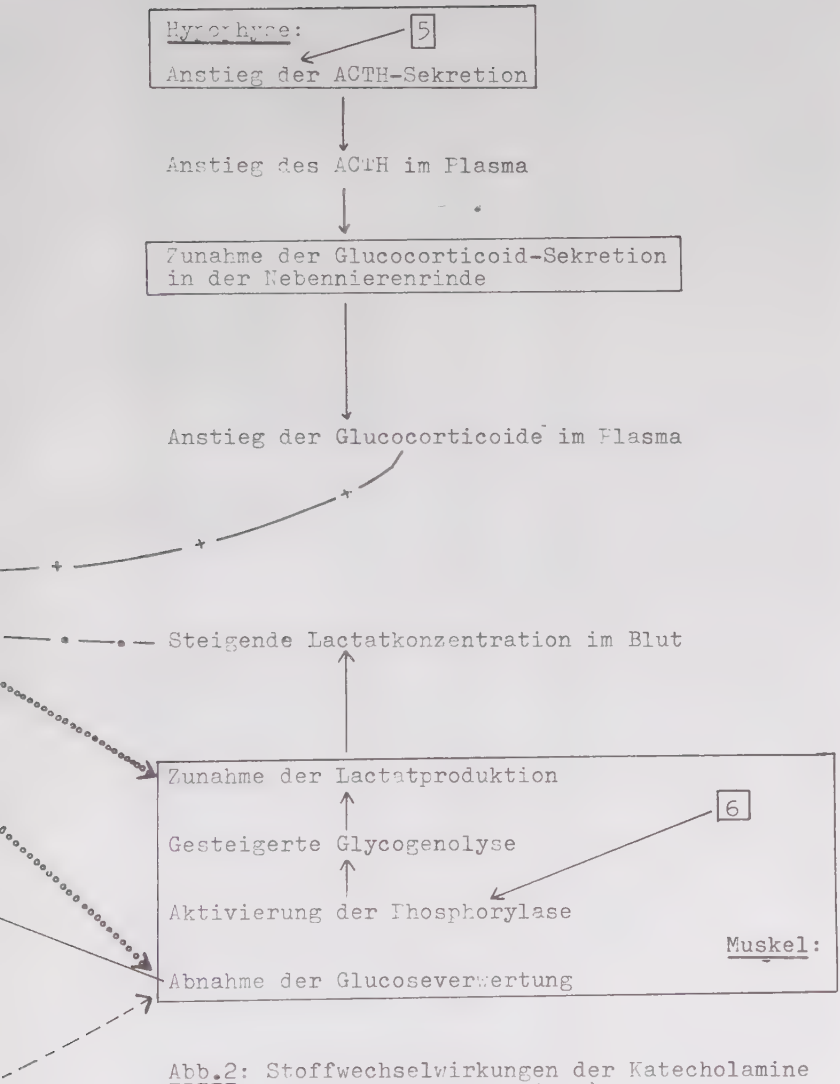


Abb.2: Stoffwechselwirkungen der Katecholamine
aus HIMMS-HAGEN 1967)

laufender Glucose-Toleranz-Kurve (DOLECEK et al. 1971). Die Spätphase des Schocks ist dann durch eine Insulinresistenz gekennzeichnet, deren Ursache freie Fettsäuren sind, die Insulin inhibieren (DELORME 1965, MICHAELIS 1968, RANDLE et al. 1963), oder auch Proteinasen, die das Insulin inaktivieren sollen (GREUER 1970). Insulin hat einen fördernden Einfluß auf die Zellpermeabilität für Monosaccharide, Fettsäuren und Aminosäuren. Die durch ein thermisches Trauma verursachte Hypoinsulinämie führt deshalb durch die gesenkte Zellpermeabilität und durch die Hemmung glycolytischer Enzyme zu einer verminderten Glycolyse in Muskulatur und Leber. Ferner kommt es zu einer erhöhten Glycogenolyse in Muskulatur, Fettgewebe und Leber; außerdem zu einer verminderten Glycogenbildung in Muskulatur und Leber (BAUER 1977). Der intrazelluläre Glucosemangel bewirkt in der Leber eine verstärkte Gluconeogenese - insbesondere aus Aminosäuren - und eine verstärkte Glucoseausschwemmung aus der Leber.

Wie bereits mehrfach erläutert, ist der Stoffwechsel bei schwerverbrannten Patienten infolge erhöhter Katecholaminspiegel über Wochen gesteigert. Wie Untersuchungen ergaben, sind Patienten, deren Energieumsatz maximale Werte erreicht hatte, nicht mehr in der Lage, auf zusätzliche Stressfaktoren wie Abkühlung, Infektion und Blutungen durch eine weitere Stoffwechselsteigerung zu reagieren (WILMORE 1974).

Ein derartiger zusätzlicher Stressfaktor kann nach Ablauf der Schockphase in der sogenannten Intoxikationsphase der Verbrennungskrankheit diskutiert werden. WILMORE fand bei 11 Patienten (im Durchschnitt: 47% der Körperoberfläche verbrannt) zwischen dem 6. und dem 10. Tag nach der Verbrennung einen deutlichen

Gipfelpunkt des energetischen Umsatzes. In einer früheren Darstellung der Temperaturmaxima in Korrelation zum Zeitpunkt des Todes konnte ein Gipfel zwischen dem 2./3. und 6./7. Tag ermittelt werden (KOSLOWSKI 1959). Vom 2./3. bis zum 6./7. Tag traten Temperatursteigerungen von oft bedrohlicher Höhe auf; die Hyperthermie mit Krämpfen - bei gleichzeitigem Versagen der Nieren - kennzeichnete den weiteren Verlauf der Verbrennungskrankheit. In beiden Studien liegt also das Maximum des energetischen Umsatzes ungefähr im gleichen Zeitraum; dieser Zeitpunkt gilt gemeinhin als Phase der Intoxikation.

Inwieweit nun bei der Verbrennungskrankheit in der Phase der Intoxikation Verbrennungstoxine in der oben beschriebenen Weise als zusätzliche Stressfaktoren wirksam werden, wie und wo sie etwa über andere Mechanismen in das Stoffwechselgeschehen verbrannter Patienten eingreifen, darüber liegen bis jetzt noch keine einheitlichen Vorstellungen vor.

CUENI et al. (1971) konnten im Tierversuch nach intraperitonealer Injektion von Verbrennungstoxin lichtmikroskopisch eine Schädigung der Nierentubuli und eine Läsion der Lungenalveolen nach intravenöser Toxingabe beobachten; sie vermuten eine generalisierte Zellmembranschädigung.

Als Ausdruck einer membranschädigenden Wirkung wurde ein Anstieg der beta-Glucuronidase nach i.v. Injektion von Verbrennungstoxin, jedoch auch nach Gabe von Nativprotein beobachtet (DROSTE 1977).

Besondere Beachtung fand die Leber, das zentrale Entgiftungs- und Stoffwechselorgan. ARTURSON (1961) beobachtete nach Verbrennungen in der Leber eine Anschwellung der Leberzellen mit vakuoliger Degeneration, Verfettung und Nekroseherden.

Neuere Ergebnisse der Baseler Forschungsgruppe (SCHOENENBERGER et al. 1976) verweisen auf die Anreicherung des Verbrennungstoxins in allen Organen, insbesondere aber in der Leber. Im Gegensatz dazu zeigte das Nativprotein kaum eine Gewebsaffinität. Das Toxin wird in der Leber angereichert und bewirkt dort eine allgemeine schwere Zellschädigung mit Mitochondrienveränderungen (in Form von vakuoliger Veränderung), Aufhellung der Matrix sowie Cristolyse.

Es könnten sich noch eine Reihe weiterer klinischer Beobachtungen und experimenteller Untersuchungen zur Pathogenese der Verbrennungskrankheit anschließen. Abschließend soll an dieser Stelle in der Frage der Pathogenese der Verbrennungskrankheit auf die schon fast 20 Jahre zurückliegende Feststellung von KOSLOWSKI (1959) verwiesen werden, die in dem Kern ihrer Aussage noch immer Gültigkeit behält: " So treten bald das eine, bald das andere Organ, oder auch Organsysteme und Funktionskreise wie das RES, das Gefäßsystem, der Sauerstoffmangel, das vegetative Nervensystem, das Hypophysen-Nebennierenrinden-System - und neuerdings auch die Folgen gesteigerter und beschleunigter Proteolyse, also die intravitale Autolyse der Gewebe- und Blutproteine - in den Mittelpunkt des Interesses."

4. Kohlenhydratstoffwechsel in der Leber

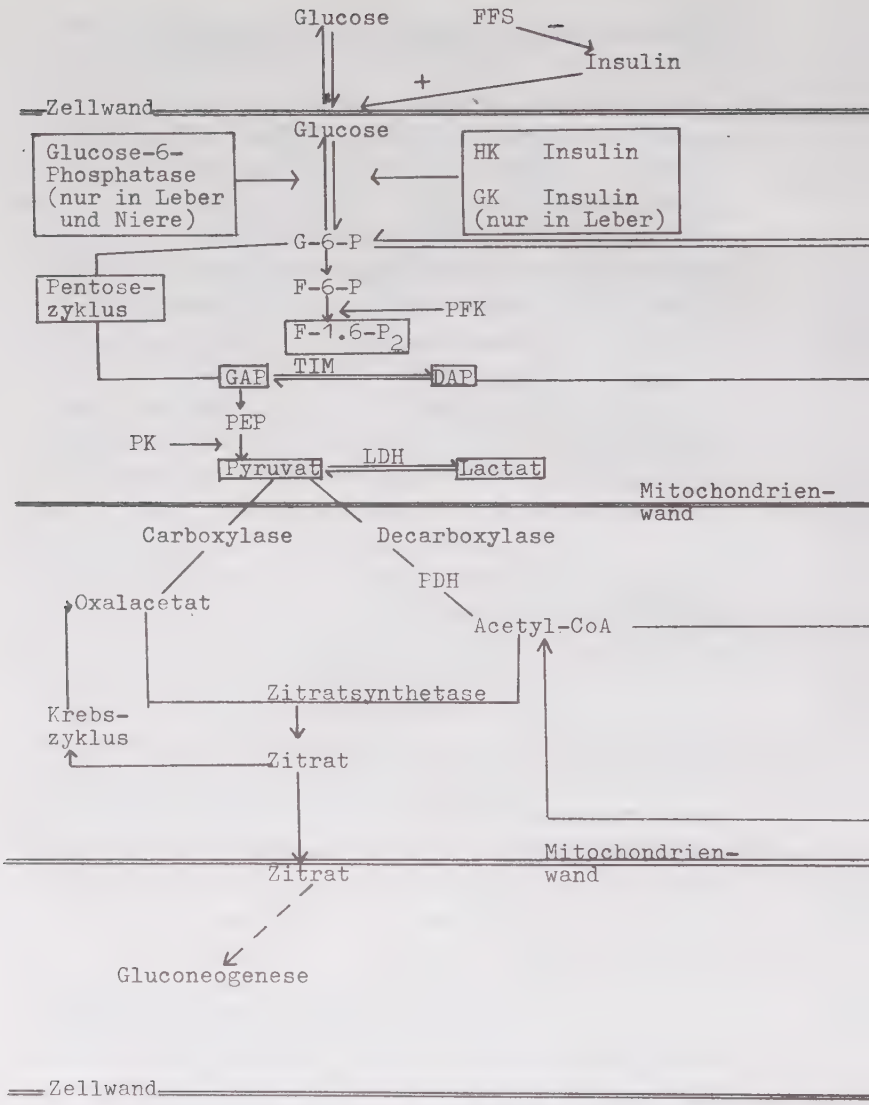
Zum besseren Verständnis der in dieser Arbeit gemessenen Metabolitkonzentrationen werden im folgenden physiologische und pathophysiologische Grundzüge des

Kohlenhydratstoffwechsel der Leber erörtert:

Die Leber ist das zentrale Stoffwechselorgan des Körpers; hier spielen sich zahlreiche intermediäre Stoffwechselprozesse ab. Für den Kohlenhydratstoffwechsel besitzen die Glucose sowie die phosphorylierte Form, das Glucose-6-phosphat eine Schlüsselposition; von hier zweigen verschiedene Stoffwechselwege ab. Die Abbildung 3 zeigt in stark vereinfachter Form die wichtigsten Stoffwechselprozesse im Kohlenhydratstoffwechsel der Leber.

Der Glucosetransport in die Skelettmuskel-, Herzmuskel- und Fettgewebszelle erfolgt unter Kontrolle des Insulins. Bei der Leber (CAHILL 1959) sowie bei den Erythrozyten und den Nervengeweben hingegen ließ sich ein Insulin-abhängiger Transportmechanismus in die Zellen nicht feststellen. Die Leberzellen sind für Glucose frei permeabel (SACKS 1960). Es liegen Untersuchungen vor, aus denen hervorgeht, daß in bestimmten Konzentrationsbereichen die Glucosekonzentration in der Leberzelle und im Plasma unterschiedlich sein kann (CAHILL 1959): Da die Leberzelle für Glucose frei permeabel ist, sollte man erwarten, daß der Glucosegehalt in der Leberzelle mit dem Blutzuckergehalt weitgehend identisch ist. CAHILL zeigt, daß bei einer Plasmakonzentration von 160mg/100ml H_2O = 150mg% die Konzentration der freien Glucose in der Leberzelle gleich ist der Konzentration im Plasma. Steigt der Glucosegehalt des Plasmas über diesen Bereich an, so findet sich in der Leber weniger Glucose als im Plasma; unterhalb dieser Konzentration ist der Glucosegehalt im Plasma niedriger als in der Leber.

Die Phosphorylierung der Glucose erfolgt durch das Schlüsselenzym Glucokinase bzw. Hexokinase. Die Hexo-


Glucose
FFS
−
Insulin
+
Zellwand
Glucose
Glucose-6-Phosphatase (nur in Leber und Niere)
HK Insulin
GK Insulin (nur in Leber)
G-6-P
Pentose-zyklus
F-6-P
PFK
F-1.6-P2
GAP
TIM
DAP
PEP
PK
Pyruvat
LDH
Lactat
Mitochondrien-wand
Carboxylase
Decarboxylase
PDH
Oxalacetat
Acetyl-CoA
Zitratsynthetase
Krebs-zyklus
Zitrat
Mitochondrien-wand
Zitrat
Gluconeogenese
Zellwand

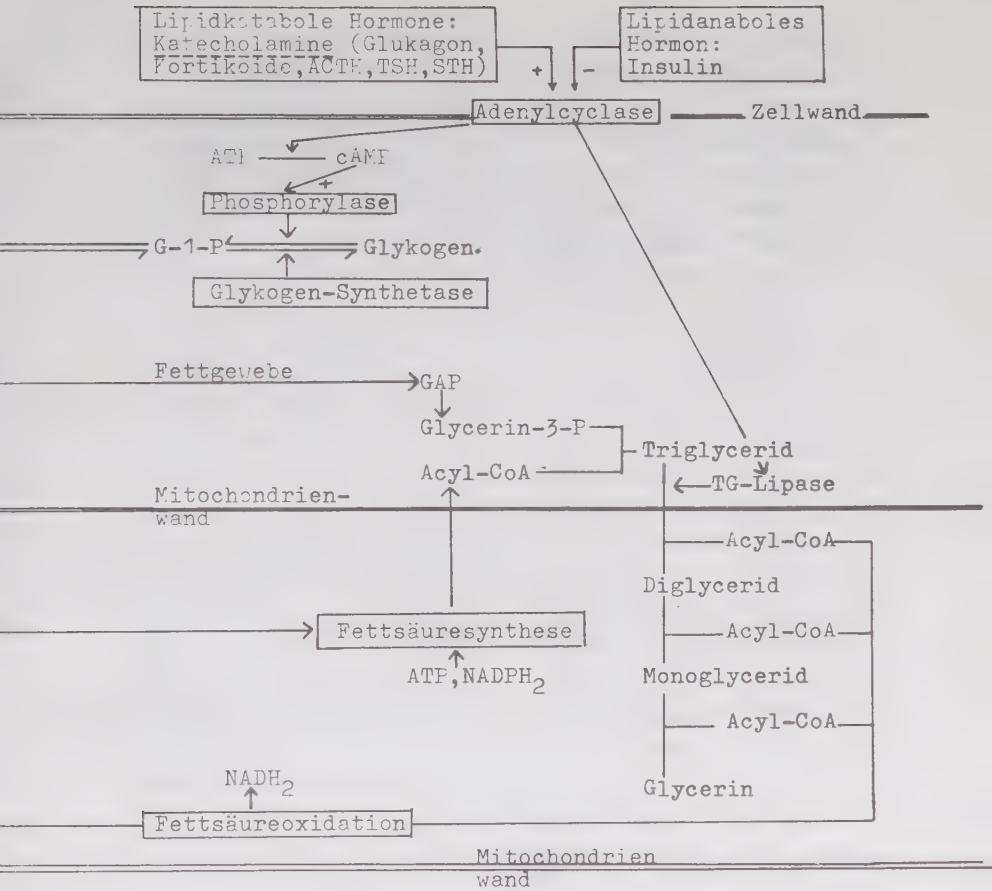


Abb.3: Schematische Darstellung über das Zusammenwirken von Kohlehydratstoffwechsel, Fetthaushalt und Zitronensäurezyklus (modifiziert nach VAN DE LOO 1976).

kinase ist ein relativ unspezifisches Enzym, welches in der Leber keine große Rolle spielt (FÖRSTER und MEHNERT 1976). Die Glucokinase hingegen ist streng spezifisch für Glucose und findet sich nur in der Leber (SOLS,SILLERO und SALAS 1965). Die Phosphorylierung der Glucose in der Leber durch die Glucokinase erfolgt in Abhängigkeit von den jeweiligen Blutzuckerkonzentrationen. Die Glucokinase hat eine geringe Affinität zu Glucose, somit eine hohe Michaelis-Konstante (K_M=10mmol). Erst bei hohen Konzentrationen ist die Glucokinase gesättigt; die Sättigungskonzentration liegt bei 450 bis 500mg/100ml Glucose (FÖRSTER und MEHNERT 1976).Da die Leberzelle für Glucose frei permeabel ist, limitiert der Glucokinaseschritt den Glucoseumsatz in der Leberzelle. Für die Aufrechterhaltung der Glucokinaseaktivität ist Insulin erforderlich (SHARMA et al. 1964). Inhibitoren der Leber-Glucokinase sind: freie Fettsäuren (LEA und WEBER 1968), Acetyl-CoA und Phosphoenolpyruvat. In den extrahepatischen Geweben hat die Hexokinase, die dort die Phosphorylierung der Glucose katalysiert, eine wesentlich niedrigere Michaelis-Konstante (0.001 bis 0.1mmol). Bei normalem Blutzuckerspiegel ist dieser Reaktionsschritt immer voll gesättigt. In den extrahepatischen Geweben ist somit der limitierende Faktor die Permeabilität der Zellmembran, die wiederum durch das Insulin reguliert wird (MORGAN et al. 1961a). Die Aktivität der Hexokinase wird zusätzlich noch durch das Wachstumshormon und das Cortisol aufrechterhalten (MORGAN et al. 1961b); Glucose-6-phosphat setzt die Aktivität der Hexokinase herab (REGEN et al. 1961). Weitere Schlüsselenzyme der Glycolyse sind die Phosphofructokinase und die Pyruvatkinase. Die Phosphofructokinase wird aktiviert durch: AMP, ADP, 3,5-AMP, anorganisches Phosphat, F-6-P und

F-1.6-P_2; die PFK wird gehemmt durch: ATP, FFS und Citrat (DENTON und RANDLE 1966, HOOD und HOLLOWAY 1976, MANSOR et al. 1962, NEWSHOLME und RANDLE 1964, PASSONEAU und LOWRY 1962 und 1964, POGSON und RANDLE 1966, RAMADOSS et al. 1975). Die Pyruvatkinase wird aktiviert durch F-1.6-P_2; gehemmt wird sie durch: FFS, ATP, Acetyl-CoA, NADH und Phosphoenolpyruvat (BLAIR et al. 1975).

Die Gluconeogenese gewährleistet die Glucoseversorgung des Gehirns auch dann, wenn keine Glucosezufuhr von außen erfolgt und die Glycogenvorräte erschöpft sind. Die menschliche Leber enthält maximal etwa 50 bis 100 g Glycogen, d.h. 3 bis 10 Prozent ihres Gewichtes; in der gesamten Körpermuskulatur befinden sich weitere 200 bis 300 g Glycogen (FÖRSTER und MEHNERT 1976). Nach 10 bis 20-stündiger Nahrungskarenz ist die Leber des Menschen praktisch glycogenfrei (SCHULZE und KAFFARNIK 1970). Nach GREEN und RAPELLA (1965) kann die unter Glucocorticoideinfluß aus AS, FFS und Glycerol gebildete Glucosemenge den aus der Glycogenolyse erzielten Glucosewert um das 10-fache übertreffen. Die Gluconeogenese ist ein Vorgang, der mit einem hohen Verbrauch an energiereichen Verbindungen einhergeht. Pro Molekül Pyruvat werden bei der Gluconeogenese mindestens 3 energiereiche Phosphatverbindungen gespalten (Pyruvatcarboxylase, Phosphoenolcarboxykinase und Phosphoglyceratkinase). Gluconeogenetisch aktive Organe müssen daher eine hohe ATP-Bildungsrate besitzen, also einen sehr aktiven Stoffwechsel aufweisen; wahrscheinlich wird die Energie für die Glucoseneubildung in der Leber durch den Abbau von Fettsäuren bereitgestellt (FÖRSTER und MEHNERT 1976). Im nachfolgenden Schema sind die Inhibitoren und Aktivatoren gluconeogenetischer Schlüsselenzyme aufgezeigt.

Inhibitoren	ADP		Fructose-6-Phosphat AMP, ADP zyklisches AMP	Glucose-6-Phosphat
Schlüsselenzyme der Gluconeogenese	Pyruvatcarboxylase	Carboxykinase	Fructosediphosphatase	Glucose-6-phosphatase
Aktivatoren	Acetyl-CoA Mg^{2+}		Citrat	

Tabelle 1: Inhibitoren und Aktivatoren gluconeogenetischer Schlüsselenzyme (nach FÖRSTER und MEHNERT 1976)

Das Glykogen der Leber und Niere trägt als rasch mobilisierbarer Energiespeicher zur Regulation der Blutglucose bei; nur diese beiden Organe besitzen eine Glucose-6-Phosphatase. Der in der Muskulatur befindliche Glykogenvorrat dient als Reserve für den Eigenbedarf. Im Muskel wird aus Glycogen Lactat gebildet, welches in der Leber zu Glucose (Cori-Zyklus) resynthetisiert werden kann.

Der Glycogenauf- und -abbau in der Leber erfolgt

durch die beiden Schlüsselenzyme Phosphorylase und Glycogensynthetase (Abb.4). Diese beiden Enzyme ermöglichen eine genau abgestufte Regulation und somit eine rasche Anpassung an wechselnde Stoffwechselsituationen. Die gegenläufige Regulierung der beiden Enzyme bewirkt, daß bei hormonell erfolgter Bildung von cyclo-AMP die Leber-Phosphorylase in die aktive Form überführt wird, die Glycogen-Synthetase hingegen in die inaktive Form (HERS et al. 1970 und HIMMS-HAGEN 1967).
Die Aktivität der Synthetase erfährt durch die Anwesenheit von Glucose, Glucose-6-Phosphat und Glucocorticoiden eine Steigerung; Katecholamine und Glukagon bewirken eine Aktivierung der Phosphorylase, somit einen Glycogenabbau.

Bei diabetischen Ratten wird in der Leber Glycogen rasch abgebaut; beim akuten Insulinmangel nimmt die Glucose in der Zelle zu, F-1.6-P_2, DAP, Lactat und Pyruvat nehmen ab (KALKHOFF et al. 1966). Beim chronischen Insulinmangel findet man die gleichen Veränderungen, der Lactatgehalt nimmt jedoch zu (KALKHOFF et al.1966). Demzufolge wird die Glycolyse beim akuten Insulinmangel am PFK-Schritt gehemmt.

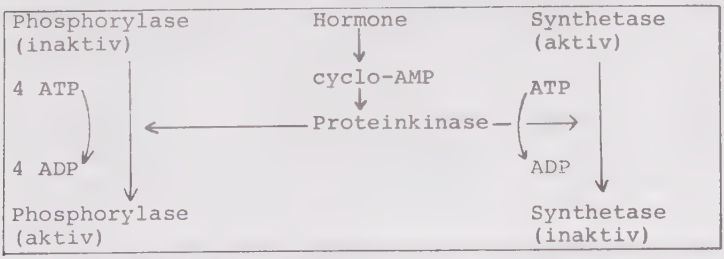


Abb.4: Gegenläufige Regulation der beiden Schlüsselenzyme des Glycogenstoffwechsels der Leber (nach FÖRSTER und MEHNERT 1976)

B. Experimenteller Teil

a) Wahl der Methode

1. Organentnahme

Unter einem Metaboliten eines Gewebes versteht man den Gehalt einer Komponente der normalen Sequenz einer Stoffwechselreaktion (WELCH 1945). Von einem "Metabolitgehalt" wird dann gesprochen, wenn der Analysenwert auf das Frischgewicht des betreffenden Körpers bezogen wird (HOHORST et al. 1950). Um nun den "Metabolitgehalt" annähernd im "Status in vivo" bestimmen zu können, muß die Fixierung der Gewebe auf schnellem Wege erfolgen.

Eine einfache Methode um größere Gewebestücke extrem schnell abzukühlen besteht darin, daß das entsprechende Gewebsstück zwischen zwei mit flüssiger Luft tiefgekühlten, schnell aufeinanderstoßenden Blöcken eines gut wärmeleitenden Metalls zu einem dünnen Stück zusammengepreßt wird (WOLLENBERGER et al. 1960). Für unsere Versuche verwendeten wir eine Gefrierstoppzange; die Ausmaße der beiden Metallblöcke betrugen 6x3x0.7 cm.

Als empfindlicher Indikator für die Fixierung des "Status in vivo" haben sich die Relationen Lactat/Pyruvat und ATP/ADP erwiesen (HOHORST et al. 1950). In der Leber nimmt der ATP/ADP Quotient in den ersten 10 Sekunden nach der Organentnahme um ungefähr die Hälfte, in den folgenden 50 Sekunden um ca. 10% des Ausgangswertes ab (HOHORST et al. 1950).

2. Narkose

MARQUEZ-JULIO und FRENCH (1967) haben bei Organentnahmen mit der Gefrierstoppzange Untersuchungen angestellt, inwieweit Äther, Pentobarbital und Ausschluß von Narkosemittel die Analysenergebnisse beeinflußen. Die besten Ergebnisse, also: höchster ATP- und niedrigster Lactatgehalt wurden unter Verwendung von Pentobarbital erzielt. Bei unseren Versuchen kam deshalb ebenfalls Pentobarbital als Narkosemittel zur Anwendung.

Da in unseren Versuchen die Narkosedauer je Tier vier Stunden betrug, sind Stoffwechselwirkungen des Pentobarbitals in Rechnung zu stellen. Deshalb soll an dieser Stelle kurz die Wirkung von Pentobarbital auf den Organismus erörtert werden:

Pentobarbital wirkt wie andere Barbiturate glycolytisch; je nach Dosierung kommt es zu einem beträchtlichen Anstieg von Lactat. Eine Hemmung der Gluconeogenese erfolgt relativ rasch (SCHOLZ et al. 1966). Bei gut ernährten Tieren wurde eine Hyperglycämie und ein Abfall des Insulinspiegels im Plasma vermerkt; bei hungernden Tieren konnte ein Glucoseanstieg nicht gemessen werden (AYNSLEY-GREEN et al. 1973, BENKE 1971, FURNER et al. 1972). Die erniedrigten Insulinwerte sollen durch Hemmung der Insulinsekretion bei gesteigerter Aktivität des Symphatikus bedingt sein (AYNSLEY-GREEN 1973). DAVIDSON (1971) konnte den Nachweis erbringen, daß in Gegenwart von Pentobarbital die Glucoseaufnahme in den Muskel reduziert war. Die Folgen einer Pentobarbitalnarkose sind somit Stoffwechselveränderungen in Leber und Peripherie.

Weiterhin kommt es unter Pentobarbitaleinwirkung

zu einer Hemmung der Atmungskette. Die maximale Atmungshemmung durch das Pentobarbital beträgt etwa 60 Prozent. Die oxidative Phosphorylierung ist jedoch nicht entkoppelt, die Hemmung der Atmungskette ist reversibel (SCHOLZ et al. 1966).

Von Bedeutung für die extramitochondrialen Redoxpotentiale ist das Redoxpaar Lactat/Pyruvat. Wegen der ausschließlichen Lokalisation der LDH im extramitochondrialen Raum stellt es ein Indikatorsystem dar, welches eine sichere Aussage über das extramitochondriale Redoxpotential des NAD-Systems zuläßt. Unter Barbiturateinwirkung ist der Lactat/Pyruvat-Quotient stark erhöht; bei Überdosierung des Narkosemittels findet man einen Lactat/Pyruvat-Quotienten von ca. 30, der sich von Messungen unter Anoxie nicht wesentlich unterscheidet (SCHOLZ et al. 1966).

Unter der Voraussetzung, daß die Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte und des Kaninchens nicht wesentlich voneinander abweichen, sollen die von VAN DE LOO (1976) in der Leber der Ratte unter kurzfristiger Nembutalnarkose gemessenen Werte als Vergleichswerte herangezogen werden. Der Vergleich der beiden Kontrollgruppen zeigt, daß die vierstündige Pentobarbitalnarkose einen nicht unerheblichen Einfluß auf die in dieser Arbeit gemessenen Metabolitkonzentrationen hat. Aus der Tabelle wird ersichtlich, daß - gegenüber den von VAN DE LOO gemessenen Werten - in der vorliegenden Arbeit der ATP-Gehalt etwas niedriger, der Lactatgehalt und der Lactat/Pyruvat-Quotient erhöht sind. Dies ist wohl auf die oben beschriebenen Wirkungen des Pentobarbitals auf den Stoffwechsel zurückzuführen.

Metabolit	VAN DE LOO	Eigene Versuche
ATP	1.48	1.14
Pyruvat	0.059	0.057
Lactat	2.35	5.00
Lactat/ Pyruvat	43.07	84.2

Tabelle 2: Vergleich der Ergebnisse von Metabolitgehalten (µM/g FG) aus der Leber der Ratte (VAN DE LOO 1976) und des Kaninchens (eigene Versuche). Die Gewebsentnahme bei der Kontrollgruppe von VAN DE LOO erfolgte bei kurzfristiger Narkose ohne Verwendung einer Gefrierstoppzange durch sofortiges Eintauchen in flüssige Luft. In der vorliegenden Arbeit hingegen erfolgte die Gewebsentnahme nach vierstündiger Narkose mit der Gefrierstoppzange.

3. Vorversuche - Toxinmenge

Nach einer Reihe von Vorversuchen (DROSTE und MASKOS 1977) wurde die Dosierung für die Gabe von Nativprotein und Verbrennungstoxin einheitlich auf 2 mg/kg KG festgelegt. Die Vorversuche ergaben, daß bei einer Dosierung von 3 bzw. 4 mg Apoprotein aus der verbrannten Haut/kg KG alle Versuchstiere eine Stunde nicht überlebten. Bei derselben Dosierung

des nativen Apoproteins starben die Hälfte aller Versuchstiere. Die Dosierung von 2mg/kg KG i.v. injiziert sollte garantieren, daß die Versuchstiere eine längere Versuchsdauer überstehen konnten.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt 45 Tiere untersucht. Bei 38 konnten Organe entnommen werden; 7 Tiere starben:

1 Tier sofort nach Injektion des Proteins aus verbrannter Haut
1 Tier sofort nach Injektion des Proteins aus unverbrannter Haut
1 Tier 1-4 Stunden nach Injektion des Proteins aus verbrannter Haut
4 Tiere 1-4 Stunden nach Injektion des Proteins aus unverbrannter Haut.

Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß nicht nur das Apoprotein aus verbrannter Haut, sondern ebenso auch das Apoprotein aus unverbrannter Haut im Organismus eine toxische Wirkung zur Folge hat.

b) Material und Methoden

1. Versuchstiere

A. Für die Herstellung der Lipoprotein-Komplexe aus verbrannter und unverbrannter Haut wurden NMRI Mäuse (Versuchstierzuchtanstalt: W.Gassner, 8741 Sulzfeld) verwendet. Die Nahrung der Tiere bestand vorwiegend aus der Standartdiät Altromin und Wasser ad libitum.

B. Die Versuchstiere waren männliche und weibliche

Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 3.1 kg. Die Tiere (Tierzuchtanstalt Schmid, Holzgerlingen) wurden in Einzelkäfigen gehalten und erhielten ebenfalls Altromin und Wasser ad libitum. Die Raumtemperatur betrug 18-22°C.

Die Tiere wurden in folgende Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1: 6 Tiere, i.v. Injektion von 2ml O.9% NaCl; Organentnahme nach 4 Stunden: Kontrollgruppe.

Gruppe 2: 6 Tiere, i.v. Injektion von 2 mg Nativ-Protein/kg KG gelöst in 2 ml Tyrode I/II (aus unverbrannter Haut); Organentnahme nach 4 Stunden.

Gruppe 3: 6 Tiere, i.v. Injektion von 2 mg Protein aus verbrannter Haut (Toxin)/kg KG, gelöst in 2 ml Tyrode I/II; Organentnahme nach 4 Stunden.

Gruppe 4: 10 Tiere, i.v. Injektion von 2 mg Nativ-Protein/kg KG, gelöst in 2 ml Tyrode I/II; Organentnahme nach 24 Stunden.

Gruppe 5: 10 Tiere, i.v. Injektion von 2 mg Protein aus verbrannter Haut (Toxin)/kg KG, gelöst in 2 ml Tyrode I/II; Organentnahme nach 24 Stunden.

Um Stoffwechselschwankungen, die vom Tag- und Nachtrhythmus abhängig sind (PESSACQ et al. 1972), weitgehend auszuschalten, erfolgte die Organentnahme zwischen 13 und 16 Uhr. In allen Fällen dauerte die Narkose 4 Stunden.

2. Chemikalien

A. Für die Isolierung des Verbrennungstoxins:
Metallfreies, doppelt destilliertes Wasser kam zur Anwendung. Alle Chemikalien waren analysenrein. Die bei der Isolierung verwendeten Elektrolytlösungen hatten die Zusammensetzung von deproteiniertem Serum: zwei sterile Stammlösungen, Tyrode I und II wurden zu gleichen Teilen gemischt und der pH-Wert mit 2 N NaOH auf pH 8.6 eingestellt (Tyrode I: 0.274 M Na^+, 0.054 M K^+, 0.0072 M Ca^{2+}, 0.004 Mg^{2+}, 0.285 M Cl^-, pH 6.1; Tyrode II: 0.0245 M Na^+, 0.0238 M HCO_3^-, 0.00065 M $H_2PO_4^{2-}$, pH 8.1).

B. Für die enzymatische Analyse der Gewebeproben:
Alle Reagenzien für die enzymatischen Messungen stammen von der Fa. Boehringer, Mannheim.

ATP: Biochemica Test Combination Nr. 123897
Glucose: Biochemica Test Combination Nr. 124010
Lactat: Biochemica Test Combination Nr. 124842
Pyruvat: Biochemica Test Combination Nr. 124982
ADP/AMP: Biochemica Test Combination Nr. 15980
Triosephosphat-Isomerase, Bestellnr. 15333
Aldolase, Bestellnr. 15419
NADH, Bestellnr. 15142

3. Narkosemittel

Nembutal^R (Pentobarbital-Natrium), Deutsche Abbott GmbH, 6507 Ingelheim am Rhein.

4. Gefrierstoppzange

Backen der Zange: gut aufeinander passende Metallblöcke (6x3x0.7 cm).

5. Isolierung des Verbrennungstoxins aus Mäusehaut
(nach SCHOENENBERGER et al. 1972, SCHMIDT 1977)

Für das Isolierungsverfahren wurde die Mäusehaut folgendermaßen präpariert:
Die Mäuse wurden durch Genickbruch getötet, rasiert, die Haut abgezogen und das subkutane Gewebe mit einer Pinzette und einem Skalpell entfernt. Wegen der geringeren Kollagenbestandteile in der Haut wurden zumeist weibliche Tiere verwendet. Zur Hitzeapplikation wurde ein elektrisch geheizter, durch einen Thermostat auf 250°C eingestellter Kupferstempel 20 Sek. lang auf die Hautstücke gepresst. Nicht erhitzte, ansonsten jedoch gleich behandelte Haut diente für Versuche mit der Kontrollgruppe. Die nativen und die verbrannten Hautstücke wurden in Aluminiumfolie gepackt, schnell tiefgefroren und im Kühlraum langsam aufgetaut.
Isolierung:
Die Hautstücke wurden in kleine Stücke geschnitten und in eine Lösung von 0.25 M Saccharose mit 0.1 M Na_2HPO_4 mit pH 8.6 gegeben. Für die Dauer von 10 Min. wurde mit 40000 Umdrehungen/Min. homogenisiert. Beim Zentrifugieren (1100 g, 20 Min.) bildeten sich aus dem Homogenisat drei Fraktionen. Überstand und Sediment wurden verworfen. Die mittlere Fraktion wurde gegen Tyrode I/II dialysiert. Nach der Korrektur auf pH 8.6 wurde mit Ammoniumsulfat stufenweise präcipitiert. Die bei der Salzsättigung zwischen 20 und 30% ausfallende Fraktion (10 bis 20% bei nativer Haut) wurde erneut gegen Tyrode I/II dialysiert, bis kein Ammonium mit Nesslers Reagenz mehr nachweisbar war.

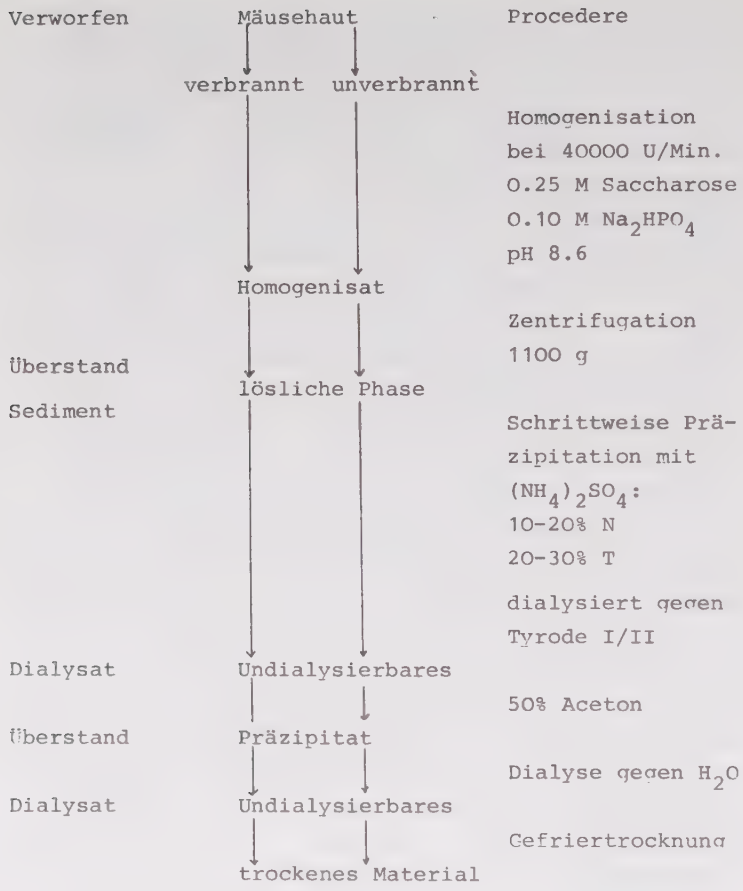


Abb. 5: Schema des Isolierungsverfahrens zur Gewinnung des Lipoproteinkomplexes aus verbrannter und unverbrannter Haut (N=Nativ, T=Toxin) (SCHOENENBERGER et al. 1972).

Mit 50% Aceton wurde erneut präcipitiert und gegen Wasser dialysiert. Das nicht dialysierbare Material wurde gefriergetrocknet.

Die aus verbrannter und unverbrannter Haut isolierten Substanzen sind Lipoprotein-Komplexe, die ähnliche chemische Zusammensetzung und ähnliche physikalische Eigenschaften aufweisen. Beide Produkte enthalten 40% Lipid und 60% Protein mit 1% Aminozucker. Beide Lipidanteile bestehen qualitativ und quantitativ identisch aus sechs verschiedenen Neutrallipiden, die Proteinanteile aus sechs verschiedenen Polypeptidketten. Bei gleicher elektrischer Ladungsdichte unterscheidet sich der toxische Lipid-Protein-Komplex von seinem nichttoxischen Analogen durch größere Dichte und um ein Mehrfaches höheres Molekulargewicht. Das Molekulargewicht des nativen Komplexes liegt um $1x10^6$, das des toxischen um $3\text{-}4x10^6$. Die toxische Substanz wird als ein Polymer eines in normaler Haut vorhandenen Membran-Lipid-Protein-Komplex angesehen (SCHOENENBERGER 1975).

Lipidextraktion:

Der Lipidanteil der aus verbrannter und nicht verbrannter Haut gewonnenen Lipid-Protein-Komplexe wurde:
1. mit Äthanol (1:20 v/v) und
2. mit Äthanol-Diäthyläther (3:2 v/v) und
3. mit Methanol-Chloroform (2:1 v/v) extrahiert.

Die organischen Lösungsmittel wurden mit Natriumsulfat getrocknet und anschließend verdampft. Der Rückstand wurde gewogen und bei $+4^{\circ}C$ im Kühlschrank aufbewahrt.

Bei unseren Versuchen kam ausschließlich das Apoprotein des Lipoprotein-Komplexes zur Anwendung.

Für jedes Versuchstier wurden 2 mg Apoprotein/kg KG abgewogen, in 2 ml Tyrode I/II gegeben und unter Kühlung homogenisiert. Die Lösung wurde den Tieren langsam in die Ohrvene injiziert. Kontrolltiere erhielten 2 ml O.9% NaCl.

6. Versuchsbedingungen

Die laterale Ohrvene wurde mit einer Butterfly punktiert. Dann wurden die Tiere mit Nembutal^{R} narkotisiert. Eine erste Injektion von O.5 ml/kg KG, sowie eine weitere Injektion von O.5 ml/kg nach 1O Min. genügten, um die Tiere in die nötige Narkosetiefe zu versetzen. Sodann wurden die A. und V. femoralis am linken Bein freigelegt. In beide Gefäße wurden Katheder eingeführt, um den zentralen arteriellen und venösen Blutdruck zu messen (DROSTE und MASKOS 1977). Dann wurde durch die Ohrvene das Toxin bzw. Nativprotein und bei der Kontrollgruppe 2 ml NaCl (O.9%) injiziert.

MASKOS (1977) maß verschiedene Parameter des kardiovaskulären Systems (arter. Druck, zentr. Venendruck u. EKG).

DROSTE (1977) bestimmte verschiedene Parameter im Serum (ß-Glucuronidase, Cholinesterase, Glucose, Lactat u. Elektrolyte).

Die Versuche waren nach 9O Min. abgeschlossen. Mit geringfügigen Dosen an Nembutal wurden die Tiere in leichter Narkose gehalten. Bei einem Teil der Tiere erfolgte die Gewebsentnahme 4 Stunden nach Injektion des Nativproteins bzw. Verbrennungstoxins. Bei dem anderen Teil der Tiere wurde 24 Stunden vor Entnahme

der Organe die Injektion entsprechender Mengen an Nativprotein bzw. Verbrennungstoxin vorgenommen. 20 Stunden nach der Injektion wurden die Tiere für 4 Stunden in Narkose gelegt.
Während der Narkose wurde die Körpertemperatur der Kaninchen mittels einer Rotlichtlampe konstant auf 37°C gehalten. Anschließend wurde operiert.

7. Operativer Eingriff und Organentnahme

Für die Operation wurden die Tiere mit Klemmen auf einem Tieroperationstisch festgemacht. Nach der jeweils 4 Stunden dauernden Narkose wurden je Tier 2 Muskelstücke und 2 Leberlappen entnommen. Die für diesen Eingriff unbedingt notwendige Narkosetiefe wurde besonders beachtet.

Begonnen wurde mit der Entnahme der Muskeln (BIHR 1977). Die Haut des rechten Oberschenkels wurde so abpräpariert, daß die gesamte Oberschenkelmuskulatur frei lag. Durch sorgfältiges Arbeiten wurde einer Verletzung von Gefäßen aus dem Wege gegangen. 2 Muskeln (medial und lateral) wurden aus ihren Fascienlogen stumpf herauspräpariert, dann erfolgte distal die Durchtrennung eines Muskels. Auf diese Weise war die Durchblutung von der proximalen Seite her gewährleistet. Das distale Ende des Muskels wurde mit einer Pinzette angehoben, so daß die vorher mit flüssiger Luft gekühlte Gefrierstoppzange mit ihren beiden Blöcken blitzartig den gesamten Muskel umgreifen konnte. Gleichzeitig erfolgte die Abtrennung des proximalen Muskelendes. Das zwischen den beiden Metallblöcken tiefgefrorene "Muskelpaket" wurde zusätzlich

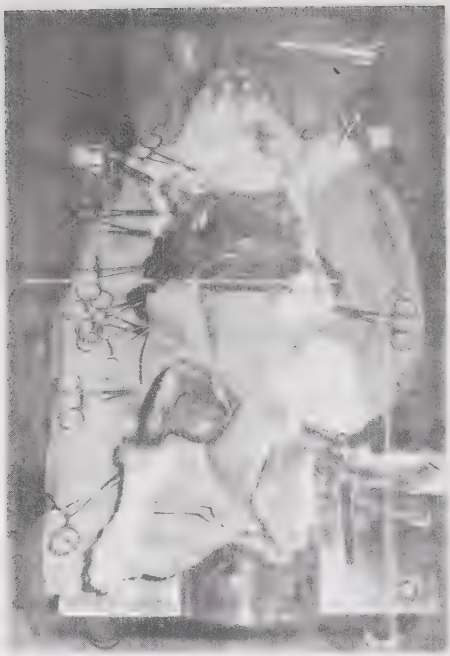


Abb. 6: Kaninchen auf dem Operationstisch unmittelbar vor der Organentnahme. Das Abdomen ist eröffnet, die Muskeln sind freipräpariert.

etwa 10 Sek. in flüssiger Luft abgekühlt und nach Einbringen in bereitgestellte Urinbecher in einem Dewar aufbewahrt. Die Deckel der Urinbecher wiesen Löcher auf, um ein Eindringen der flüssigen Luft und das Anbringen einer Drahtschlaufe zur Entnahme zu ermöglichen (Uringefäß: 100 ml, mit Schraubverschluß: W. Sarstedt, Kunstspritzgußwerk, 5223 Nümbrecht-

Rommelsdorf, Best.Nr. 76/55 und 58).

In gleicher Weise erfolgte mit der Gefrierstoppzange nach einem Medianschnitt und der Eröffnung des Abdomens die Entnahme der beiden Leberlappen. Um der Gefrierstoppzange ein ungehindertes Umfassen der Leberlappen zu ermöglichen, wurde jeder Leberlappen mit einer Klemme aus der Bauchhöhle herausgehoben. Nach der Entnahme der Gewebe wurden die Tiere sofort mit 10% KCl getötet.

Die durchschnittliche Operationsdauer betrug 15 Minuten. Den Ablauf zeigt folgendes Schema:

1. Freipräparieren von 2 Muskeln am Oberschenkel	6 Min.
2. Einfrieren der 2 Muskelstücke in vivo und Einbringen in flüssige Luft	3 Min.
3. Eröffnen des Abdomens	3 Min.
4. Einfrieren von Gewebsproben aus der Leber und Einbringen in flüssige Luft	3 Min.
insgesamt:	15 Min.

8. Obduktion

Bei allen Tieren, bei denen nach 24 Stunden Organe entnommen wurden, wurden nach der Tötung der Tiere Herz- und Lungengefäße auf Thromben untersucht. Bei 70% der Tiere, denen 2 mg Apoprotein aus verbrannter Haut injiziert wurde, fand man makroskopisch wandständige Thromben im rechten Vorhof und in der rechten Kammer, selten jedoch eine Lungenembolie (Abb. 7.). Bei 50% der Tiere, denen 2 mg Apoprotein aus unverbrannter Haut injiziert wurde, fand man makrosko-

pisch Lungenembolien, selten jedoch randständige Thromben im rechten Vorhof und in der Kammer (10%) (Abb. 8.).

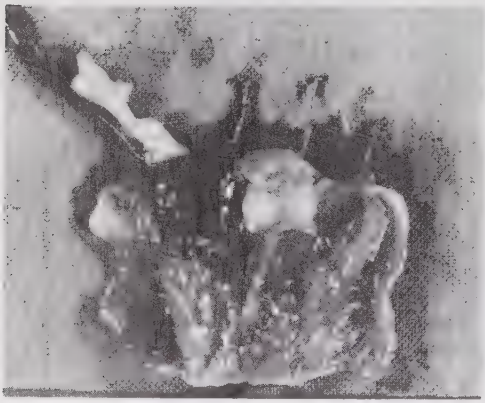


Abb. 7: Kugelthrombus im rechten Vorhof, randständige Thromben in der Kammer

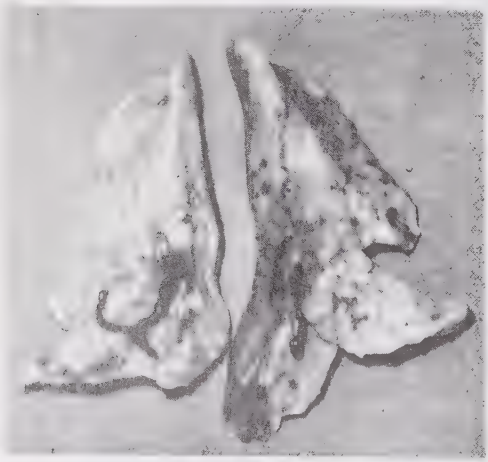


Abb. 8: Lungenembolie

9. Mörsern

Die gefrorenen Leberstücke wurden bei Raumtemperatur unter Übergießen mit flüssiger Luft 10 bis 20 Minuten lang zermörsert und sofort für die Analyse abgewogen. Das Gewebepulver wurde folgendermaßen aufgeteilt: 0.1 g für Glucose-, 0.5 g für Lactat-, 2.0 g für Pyruvat-, 1.0 g für F-1.6-P- und DAP-, 1.0 g für ATP- und 2.5 g für ADP- und AMP-Bestimmung.

Bei jedem Versuchstier wurde von beiden Muskelstücken eine Bestimmung durchgeführt; die beiden Ergebnisse wurden dann gemittelt.

10. Bestimmung von ATP (BÜCHER 1947)

Reaktionsprinzip:

3-Phospho-glycerin-säure + ATP $\xrightarrow{PGK}$ 3-Phospho-glycerin-säure-1-phosphat + ADP

3-Phosphoglycerin-säure-1-phosphat + NADH + H^+ $\xrightarrow{GAPDH}$ GAP + NAD^+

GAP $\xrightarrow{TIM}$ DAP

DAP + NADH + H^+ $\xrightarrow{GDH}$ L-3-Glycerol + NAD^+

Gemessen wird die Extinktionsabnahme von NADH.

Reagenzien:

Lösung 1: 0.5 M Triäthanolaminpuffer, pH 7.6; 4 mM Magnesiumsulfat, 6 mM Glycerat-3-phosphat

Lösung 2: 2.5 mM NADH

Suspension 3: GAPDH $\geq$ 300 U/ml; PGK $\geq$ 500 U/ml; GDH $\geq$ 40 U/ml; TIM $\geq$ 300 U/ml.

0.5 g Gewebe werden in 2 ml eiskalte 0.6 N Perchlorsäure gebracht, gut gemischt und nach 10 Min. bei 5000 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wird sofort vom Niederschlag abgegossen. 2.00 ml Lösung 1, 0.20 ml Lösung 2 und 0.20 ml Überstand nach Enteiweißung werden in eine Glasküvette von 1 cm Schichtdicke pipettiert, danach wird mit dem Plastikspatel gemischt. Die Messung der Extinktion E_1 gegen Luft erfolgt bei λ = 365 nm.
Nach Zugabe der Suspension 3 und Stillstand der Reaktion wird die Extinktion E_2 gemessen.
Berechnung: $\Delta E = E_1 - E_2$; $c = 8{,}627 \times \Delta E$ [mmol/kg FG];

11. Bestimmung von Pyruvat (CZOK und LAMPRECHT 1974)

Reaktionsprinzip:

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \underset{}{\overset{\text{LDH}}{\rightleftharpoons}} \text{Lactat} + \text{NAD}^+$$

Gemessen wird die Extinktionsabnahme von NADH.
Reagenzien:
Lösung 1: 0.7 M Trikaliumphosphat
Lösung 2: 2.5 mM NADH
Suspension 3: 2 mg LDH/ml
2 g Gewebe werden in 2 ml eiskalte, ca. 1.0 N Perchlorsäure gebracht, anschließend wird 10 Min. bei ca. 5000 U/Min. zentrifugiert. 2 ml Überstand werden mit 1 ml Lösung 1 versetzt und 15 Min. im eiskalten Wasserbad stehen gelassen. Der Niederschlag wird abzentrifugiert (10 Min., 5000 U/Min.), der Überstand wird auf ca. 25°C erwärmt. 2.00 ml Überstand und 0.20 ml Lösung 2 werden in eine Glasküvette von 1 cm Schichtdicke gegeben, danach erfolgt die Mischung mit einem Plastikspatel. Die Extinktion E_1 wird bei λ = 365 nm gemessen. 0.02 ml Suspension 3 werden

hinzugegeben. Nach dem Mischen wird der Stillstand der Reaktion abgewartet. Messung der Extinktion E_2. Berechnung: $\Delta E = E_1 - E_2$, $c = 905 \times \Delta E$ [mmol/kg FG].

12. Bestimmung von Lactat (HOHORST 1970)

Reaktionsprinzip:

L-(3)-Lactat $NAD^+ \rightleftharpoons^{LDH}$ Pyruvat + NADH + H^+

Das Gleichgewicht dieser Reaktion liegt auf der Seite von Lactat und NAD^+. Zur Verschiebung des Gleichgewichtes nach rechts werden Protonen durch alkalisches Reaktionsmedium und Pyruvat als Hydrazon abgefangen. Für den Ablauf der Reaktion wird ein hoher NAD-Überschuß verwendet.

Reagenzien:

Lösung 1: 0.5 M Glycinpuffer, pH 9.0; 0.4 M Hydrazin

Lösung 2: 27 mM NAD

Suspension 3: LDH $\geq$ 650 U/ml

Nach Gabe von 0.5 g Gewebepulver in 1 ml ca. 0.6 N eiskalte Perchlorsäure erfolgt die Mischung mit dem Plastikspatel. Danach Zentrifugation: 10 Min. bei 5000 U/Min. In bereitgestellte Reagenzgläser wird in folgender Reihenfolge pipettiert:

a) Leerwert: 2.00 ml Lösung 1, 0.020 ml Perchlorsäure (ca. 0.6 N), 0.20 ml Lösung 2, 0.02 ml Suspension 3;

b) 2.00 ml Lösung 1, 0.020 ml Überstand nach Enteiweißung, 0.20 ml Lösung 2, 0.02 ml Suspension 3.

Danach wird gemischt und genau 1 Stunde bei 25°C im Wasserbad stehen gelassen. Die Messung erfolgt in Glasküvetten (1 cm Schichtdicke). Gemessen wird die Extinktion der Probe E_p und des Leewertes E_1 gegen Luft bei λ = 365 nm.

Berechnung: $\Delta E = E_p - E_1$, $c = 10.1 \times \Delta E$ [mmol/kg FG].

13. Bestimmung von Glucose (WERNER et al. 1970)

Reaktionsprinzip:

ß-D-Glucose + H_2O + O_2 $\xrightarrow{GOD}$ D-Gluconsäure + H_2O_2

H_2O_2 + ABTS (red.) $\xrightarrow{POD}$ H_2O + ABTS (ox.)

Gemessen wird die Extinktionsabnahme des Redoxindikators ABTS.

Reagenzien:

Lösung 1: 9.1 mg Glucose/100 ml

Lösung 2: 100 mM Phosphatpuffer, pH 7.0; POD $\geq$ 0.8 U/ml; GOD $\geq$ 10 U/ml; 1.0 mg ABTS/ml.

0.1 g Gewebepulver werden in 1.0 ml 8% eiskalte Perchlorsäure gebracht, mit Plastikspatel gemischt und 10 Min. bei 5000 U/Min. zentrifugiert. Anschließend wird in folgender Reihenfolge in Reagenzgläser pipettiert:

a) Leerwert: 0.1 ml bidest. Wasser und 5 ml Lösung 2.

b) Standard: 0.1 ml Lösung 1 und 5.0 ml Lösung 2.

c) Probe: 0.1 ml Überstand nach Enteiweißung und 5 ml Lösung 2. Nach dem Mischen wird bei 20 bis 25°C inkubiert. Direktes Sonnenlicht wird vermieden. Nach 20 bis 50 Min. wird die Extinktion der Probe E_p und die Extinktion des Standards E_s gegen den Leerwert gemessen, λ = 436 nm.

Berechnung: $\Delta E = E_p/E_s$, $c = 5.55 \times \Delta E$ [mmol/KG FG].

14. Bestimmung von Fructose-1.6-diphosphat und Dihydroxyaceton-phosphat (MICHAL und BEUTTLER 1974)

Reaktionsprinzip:

$$F\text{-}1.6\text{-}P_2 \xrightleftharpoons{\text{Aldolase}} DAP + GAP$$

$$GAP \xrightleftharpoons{\text{TIM}} DAP$$

$$DAP + NADH + H^+ \xrightleftharpoons{\text{GDH}} L\text{-}(-)\text{-Glycerin-3-P} + NAD^+$$

Gemessen wird die mit der Dehydrierung von NADH verbundene Extinktionsabnahme.

Reagenzien:

1: ca. 69 g Kaliumcarbonat mit Wasser ad 100 ml lösen.

2: 7.7 ml Perchlorsäure (Dichte = 1.67) mit Wasser ad 150 ml verdünnen (= ca. 6% w/w $HClO_4$).

3: 18.6 g Triäthanolamin-hydrochlorid in etwa 200 ml Wasser lösen. 18 ml 2 N Natronlauge und 3.7 g EDTA-Na_2H_2 x 2 H_2O_2 zufügen; mit Wasser ad 250 ml auffüllen.

4: 7 mg NADH-Na_2 mit Lösung 3 ad 1.5 ml lösen.

5: Glycerin-3-phosphat-Dehydrogenase: ca. 1.0 mg Protein/ml.

6: Triosephosphat-Isomerase: ca. 50 µg Protein/ml.

7: Aldolase: ca. 1.5 mg Protein/ml.

8: Kaliumdichromat: 1 g $K_2Cr_2O_7$ mit Wasser ad 100 ml lösen.

1 g Gewebepulver wird in 5 ml Perchlorsäure (Lösung 2) gegeben und sofort gemischt. Dann wird in folgender Reihenfolge in Glasküvetten abpipettiert und die Extinktion abgelesen.

a) 1.5 ml Lösung 3, 1.5 ml enteiweißte Probe und 0.01 ml NADH-Lösung 4 werden gemischt und auf Raumtemperatur gebracht. Sodann wird die Anfangsextinktion E_1 bei λ = 340 nm im Abstand von 3 Min. zwei oder mehrmals abgelesen.

b) Zugabe von 0.01 ml GDH-Suspension 5. Mischen, nach Ablauf der Reaktion (5 bis 7 Min.) wird die Extinktion E_2 im Abstand von 3 Min. mehrmals abgelesen.

$\Delta E_{DAP} = E_1 - E_2$.

c) Zugabe von 0.01 ml TIM-Suspension 6. Mischen, nach Ablauf der Reaktion (6 bis 9 Min.) wird die Extinktion E_3 im Abstand von 2 Min. mehrmals abgelesen.

d) Zugabe von 0.01 ml Aldolase Suspension 7. Mischen, nach Ablauf der Reaktion (6 bis 9 Min.) wird die Extinktion E_4 im Abstand von 3 Min. mehrmals abgelesen.

$\Delta E_{F\text{-}1.6\text{-}P_2} = E_3 - E_4$.

Berechnung: DAP: $\Delta E \times 0.324$ [µmol/kg FG].

$F\text{-}1.6\text{-}P_2$: $\Delta E \times 0.163$ [µmol/kg FG].

15. Bestimmung von ADP und AMP (ADAM 1970)

Reaktionsprinzip:

$$AMP + ATP \xrightleftharpoons{MK} 2\ ADP$$

$$2\ ADP + 2\ PEP \xrightleftharpoons{PK} 2\ ATP + 2\ Pyruvat$$

$$2\ Pyruvat + 2\ NADH + H^+ \xrightleftharpoons{LDH} 2\ Lactat + 2\ NAD^+$$

Reagenzien:

Lösung 1: 0.5 M Triäthanolamin-HCl; 2.0 M K_2CO_3

Lösung 2: 10 mM PEP; 1.3 M KCl; 0.4 M $MgSO_4$

Lösung 3: 2.5 mM NADH

Suspension 4: LDH $\geq$ 320 U/ml

Suspension 5: PK $\geq$ 320 U/ml

Suspension 6: MK $\geq$ 500 U/ml

Zusatzreagenz: 1.0 N Perchlorsäure

2.5 g Gewebepulver werden in 5 ml 1.0 N eiskalte Perchlorsäure gegeben, gut gemischt und 10 Min. bei ca. 5000 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wird sofort vom Niederschlag abgegossen. 1.0 ml Lösung 1 wird zu 5 ml Überstand zugegeben, gemischt, 10 Min. im Eis-

bad stehen gelassen, filtriert und das Filtrat wird anschließend auf 25°C erwärmt.
In eine Glasküvette wird pipettiert:
Filtrat 2.0 ml; 0.2 ml Lösung 2; 0.2 ml Lösung 3; 0.02 ml Suspension 4; mit Plastikspatel wird gemischt und nach 5 Min. E_1 bei $\lambda = 365$ nm gegen Luft gemessen. 0.02 ml Suspension 5 werden zugegeben, gemischt und der Stillstand der Reaktion abgewartet (ca. 15 Min.). Die Extinktion E_3 wird gemessen.
Berechnung der Konzentration (c) von ADP im Gewebe:
$c = 1638.6 \times (E_1 - E_2)$ [µmol/kg FG].
Berechnung der Konzentration (c) von AMP im Gewebe:
$c = 823.8 \times (E_2 - E_3)$ [µmol/kg FG].

16. Statistik

Für die statistischen Berechnungen wurden folgende Methoden herangezogen:
Der F-Test nach FISCHER (in: CAVALLI-SFORZA 1972), der t-Test nach GOSSET (Pseudonym: Student, in CAVALLI-SFORZA 1972, in FRANKE 1969) und der ASPIN-Test (1949).

Ein Ergebnis wird dann als signifikant betrachtet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit P kleiner ist als 5%, d.h. wenn das Signifikanzniveau P in den Versuchen $\leq$ 0.05.
Die Voraussetzungen für den t-Test nach GOSSET sind das Vorliegen einer Normalverteilung und die Gleichheit der Stichprobenvarianzen in den einzelnen Gruppen.
Die Überprüfung der Normalverteilung erfolgte durch Vergleich der Daten mit einer Wahrscheinlichkeits-

tabelle sowie durch Symmetrievergleich zu beiden Seiten des Mittelwertes.
Mit Hilfe des F-Testes wurde die Gleichheit der Varianzen der zu vergleichenden Gruppe untersucht. Lag eine Varianzgleichheit nicht vor, wurde zur Berechnung der ASPIN-Test herangezogen. Voraussetzung für den ASPIN-Test ist das Vorliegen einer Normalverteilung, nicht jedoch die Varianzgleichheit.

C. Ergebnisse

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung der Metabolitbestimmungen sind in den Tabellen Nr. 3 bis 11 dargestellt. Die Abbildungen Nr. 9 bis 16 dienen der raschen Orientierung und dem besseren Überblick. Dabei sind nicht die Standartabweichungen, sondern die Mittelwerte und die mittleren Fehler der Mittelwerte eingezeichnet.

- schraffierte Fläche: Metabolitkonzentrationen von Tieren der Kontrollgruppe (2 ml 0.9% NaCl)
- gestrichelte Linie: Metabolitkonzentrationen von Tieren mit 2 mg Nativ-Protein /kg KG
- durchgezogene Linie: Metabolitkonzentrationen von Tieren mit 2 mg verbr. Protein (Toxin)/kg KG

Die Einzelergebnisse finden sich in den Tabellen Nr. 12 bis 17. Dabei gilt der abgedruckte Einzelwert jeweils als Mittelwert aus 2 Bestimmungen.

Sämtliche Analysen auf AMP in der Leber ergaben mit der Methode nach ADAM (1970) den Wert 0.

Abkürzungen:

$\bar{x}$ = Mittelwert
s_m = mittlerer Fehler des Mittelwertes
s = Standartabweichung
P = Signifikanzwahrscheinlichkeit nach dem t-Test
P^+ = Signifikanzwahrscheinlichkeit nach dem ASPIN-Test
N = Anzahl der Versuchstiere

Die Ergebnisse wurden dann als signifikant bezeichnet,

wenn das Signifikanzniveau P, bzw. P^+, $\leq$ 0.05 ist. Werte finden sich nur dann ausgedruckt, wenn ein signifikanter Unterschied vorlag.

Metabolitkonzentrationen in der Leber:

Tabelle 3: Glucose

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24Std.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	13.16	9.49	10.35	7.78	29.02
s_m =	3.75	1.51	1.41	1.22	2.09
s =	9.18	3.71	4.47	2.98	6.62

Signifikante Werte:

NaCl 4Std. - Toxin 24Std. $P < 0.01$

Toxin 4Std. - Toxin 24Std. $P^{+} < 0.01$

Nativ 24Std. - Toxin 24Std. $P < 0.01$

Tabelle 4: Lactat

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24Std.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	5.0	5.27	2.60	5.26	3.46
s_m =	1.04	0.65	0.28	1.18	0.28
s =	2.56	1.59	0.90	2.29	0.90

Signifikante Werte:

NaCl 4Std. - Nativ 4Std. $P < 0.03$

NaCl 4Std. - Nativ 24Std. $P < 0.01$

Nativ 24Std. - Toxin 24Std. $P < 0.01$

Metabolitkonzentrationen in der Leber:

Tabelle 5: Pyruvat

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24Std.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	0.057	0.099	0.052	0.119	0.073
s_m =	0.006	0.015	0.007	0.022	0.009
s =	0.016	0.037	0.022	0.054	0.030

Signifikante Werte:

NaCl 4Std. - Toxin 4Std. $P < 0.03$

Nativ 4Std. - Nativ 24Std. $P < 0.01$

Toxin 4Std. - Toxin 24Std. $P < 0.05$

Tabelle 6: Lactat/Pyruvat-Quotient

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24Std.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	84.2	57.1	52.2	45.1	51.4
s_m =	13.0	6.8	5.9	1.8	5.9
s =	31.9	16.7	18.6	4.4	18.7

Signifikante Werte:

NaCl 4Std. - Nativ 24Std. $P < 0.03$

NaCl 4Std. - Toxin 4Std. $P^{+} < 0.01$

NaCl 4Std. - Toxin 24 Std. $P < 0.03$

Metabolitkonzentrationen in der Leber:

Tabelle 7: Fructose-1.6-diphosphat

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24Std.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	0.027	0.033	0.021	0.030	0.019
s_m =	0.004	0.003	0.003	0.005	0.002
s =	0.012	0.009	0.011	0.014	0.006

Tabelle 8: Dihydroxyacetonphosphat

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24Std.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	0.029	0.027	0.033	0.034	0.035
s_m =	0.005	0.005	0.003	0.006	0.002
s =	0.012	0.013	0.009	0.016	0.009

Metabolitkonzentrationen in der Leber:

Tabelle 9: ATP

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24Std.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	1.14	1.72	1.11	1.61	1.69
s_m =	0.15	0.24	0.09	0.08	0.19
s =	0.37	0.60	0.29	0.21	0.60

Signifikante Werte:

NaCl 4Std. - Toxin 4Std. $P < 0.03$

Nativ 4Std. - Nativ 24Std. $P^+ < 0.02$

Nativ 24Std. - Toxin 24Std. $P^+ < 0.02$

Tabelle 10: ADP

	NaCl 4Std.	Nativ 4Std.	Nativ 24Std.	Toxin 4Std.	Toxin 24STd.
N =	6	6	10	6	10
$\bar{x}$ =	1.04	0.76	0.81	0.75	0.78
s_m =	0.06	0.08	0.03	0.05	0.07
s =	0.16	0.21	0.11	0.12	0.23

Signifikante Werte:

NaCl 4Std. - Nativ 4Std. $P < 0.04$

NaCl 4Std. - Nativ 24Std. $P < 0.01$

NaCl 4Std. - Toxin 4Std. $P < 0.01$

NaCl 4Std. - Toxin 24Std. $P < 0.04$

Tabelle 11:

Lactatkonzentration im Serum:

	NaCl 90 Min.	Nativ 90 Min.	Toxin 90 Min.
N =	5	6	6
$\bar{x}$ =	1.57	2.20	2.54
s =	0.48	0.65	0.97

	NaCl 4 Std.	Nativ 4 Std.	Toxin 4 Std.
N =	5	4	5
$\bar{x}$ =	2.21	4.03	3.83
s =	1.50	1.71	2.14

Abb. 9: G L U C O S E

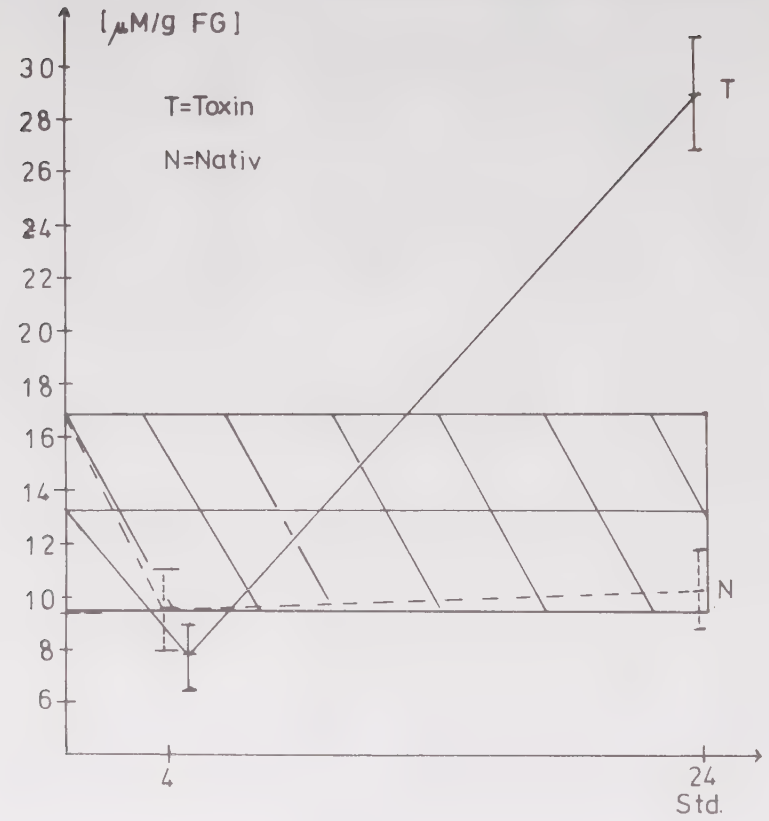


Abb. 10: L A C T A T

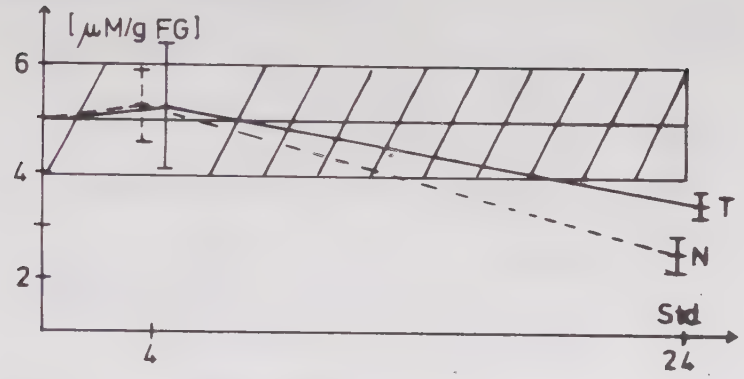


Abb. 11: P Y R U V A T

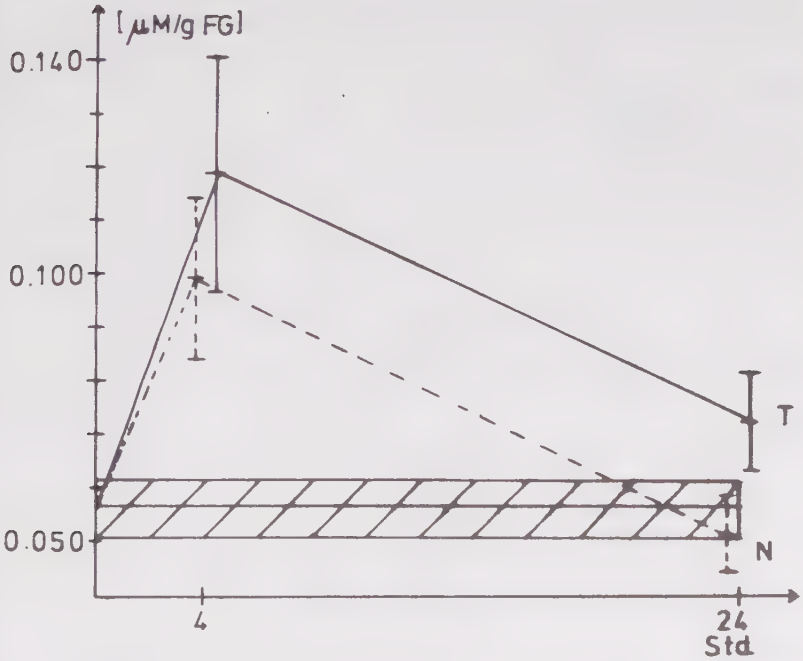


Abb. 12: L A C T A T / P Y R U V A T

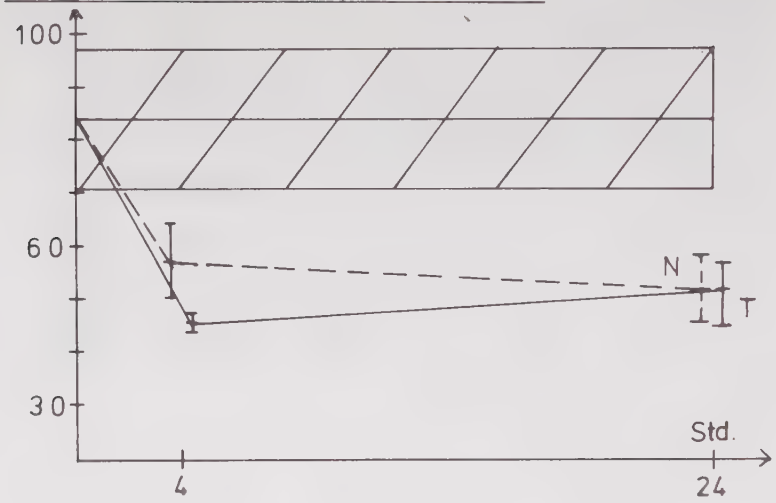


Abb. 13: D A P

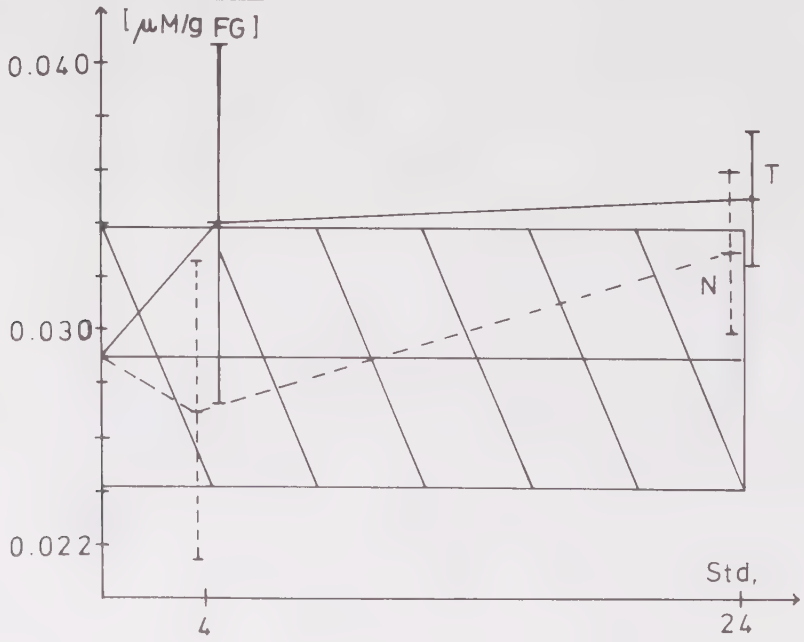


Abb. 14: F - 1.6 - P_2

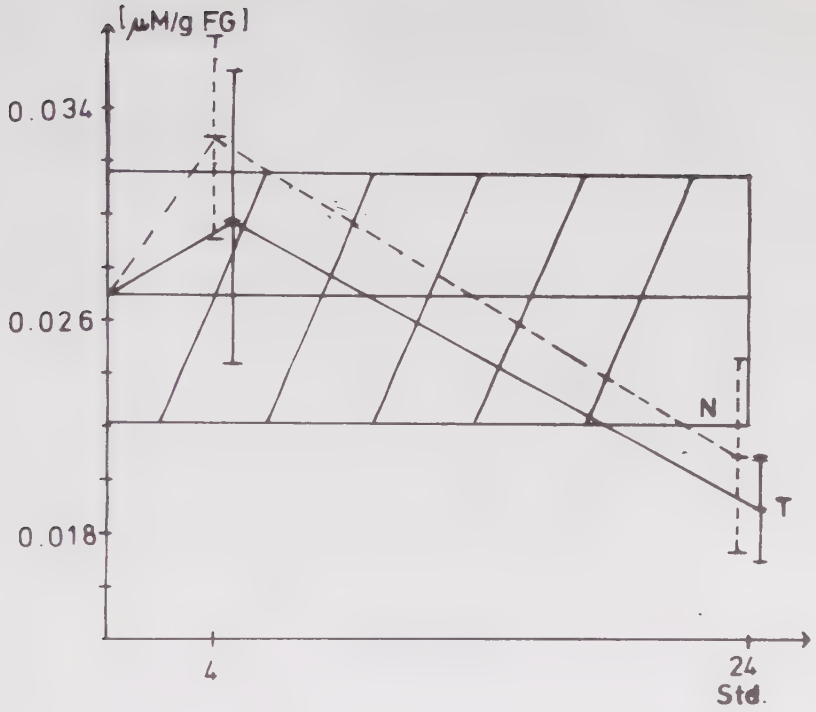


Abb. 15: A T P

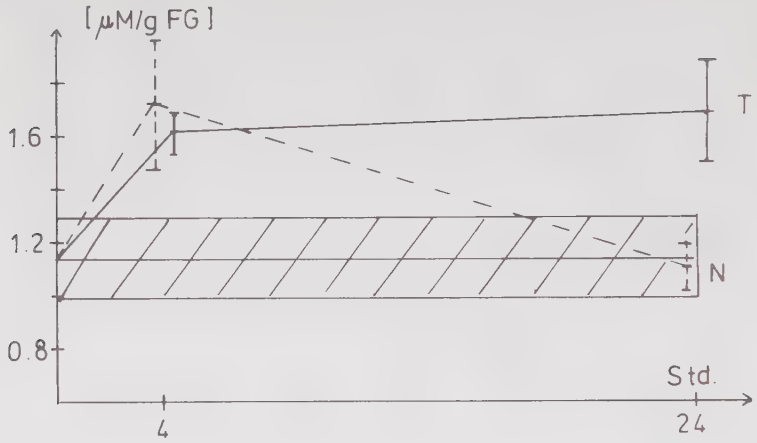
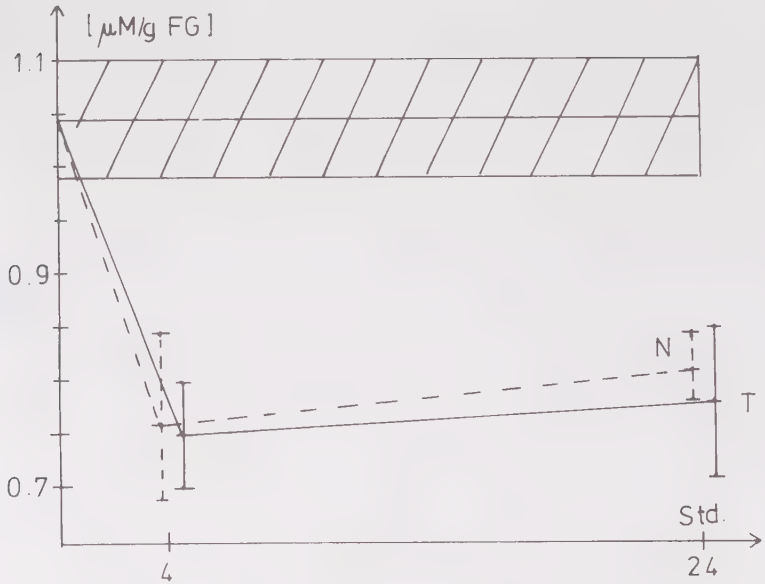


Abb. 16: A D P



Tab. 12: Gruppe 1

(2 ml 0.9% NaCl; Organentnahme nach 4 Stunden)

[mmol/kg FG]

Nr.	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P	F-1.6-P_2	DAP	ATP	ADP	AMP
1	30.02	3.61	0.051	70.78	0.014	0.010	0.80	0.865	0
2	6.03	8.66	0.086	100.11	0.020	0.028	1.70	1.254	0
3	14.49	4.48	0.062	71.68	0.028	0.025	1.21	0.979	0
4	8.14	7.54	0.053	142.26	0.043	0.044	0.67	1.251	0
5	14.71	3.42	0.056	61.30	0.039	0.040	1.32	0.948	0
6	5.59	2.09	0.035	59.29	0.016	0.028	1.12	0.953	0

Tab. 13: Gruppe 2

(2 mg Nativprotein/kg Körpergewicht; Organentnahme nach 4 Stunden)

[mmol/kg FG]

Nr.	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P	F-1.6-P_2	DAP	ATP	ADP	AMP
7	14.97	5.36	0.138	38.67	0.023	0.016	2.68	0.871	0
8	3.91	5.52	0.081	67.98	0.023	0.012	2.01	0.528	0
9	11.48	4.73	0.128	36.78	0.036	0.026	1.67	1.125	0
10	7.67	8.21	0.128	63.99	0.029	0.049	1.74	0.623	0
11	9.00	4.00	0.070	56.65	0.045	0.036	1.23	0.716	0
12	9.89	3.82	0.048	78.92	0.041	0.024	0.97	0.719	0

Tab. 14: Gruppe 3

(2 mg Toxin/kg Körpergewicht; Organentnahme nach 4 Stunden)

[mmol/kg FG]

Nr.	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P	F-1.6-P_2	DAP	ATP	ADP	AMP
13	11.70	2.55	0.049	51.82	0.013	0.015	1.41	0.772	0
14	8.34	2.67	0.056	47.00	0.025	0.034	1.51	0.650	0
15	4.49	5.23	0.120	43.58	0.022	0.015	1.50	0.820	0
16	7.72	8.38	0.176	47.39	0.030	0.051	1.99	0.577	0
17	4.25	6.53	0.160	40.81	0.034	0.052	1.53	0.773	0
18	10.16	6.17	0.153	40.22	0.054	0.037	1.73	0.931	0

Tab. 15: Gruppe 4

(2 mg Nativprotein/kg Körpergewicht; Organentnahme nach 24 Stunden)

[mmol/kg FG]

Nr.	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P	Γ-1.6-P_2	DAP	ATP	ADP	AMP
19	13.80	2.58	0.054	47.77	0.036	0.041	1.22	0.683	0
20	16.93	3.16	0.060	52.31	0.017	0.045	1.09	0.677	0
21	3.75	1.22	0.041	29.18	0.0	0.044	1.51	0.840	0
22	9.10	1.56	0.034	45.35	0.025	0.026	1.55	0.792	0
23	10.87	3.28	0.110	29.65	0.018	0.026	1.37	0.787	0
24	9.22	1.83	0.052	35.19	0.029	0.039	0.86	0.848	0
25	13.43	3.95	0.052	69.03	0.032	0.040	0.72	0.803	0
26	6.93	3.10	0.042	72.43	0.034	0.022	0.98	0.672	0
27	15.05	3.37	0.040	84.25	0.014	0.026	0.83	1.012	0
28	4.43	1.96	0.034	56.97	0.008	0.020	1.00	0.986	0

Tab. 16: Gruppe 5

(2 mg Toxin/kg Körpergewicht; Organentnahme nach 24 Stunden)

[mmol/kg FG]

Nr.	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P	F-1.6-P_2	DAP	ATP	ADP	AMP
29	24.4	3.23	0.063	50.90	0.019	0.033	1.24	0.510	0
30	27.0	4.15	0.107	38.85	0.019	0.045	2.39	0.616	0
31	23.0	1.91	0.060	31.51	0.008	0.018	2.64	0.723	0
32	37.0	4.00	0.050	78.89	0.030	0.026	2.05	1.038	0
33	36.9	4.96	0.145	34.20	0.021	0.049	2.24	0.477	0
34	34.3	3.96	0.062	64.07	0.027	0.032	1.20	0.709	0
35	21.0	2.46	0.069	35.70	0.014	0.036	1.56	0.650	0
36	32.0	2.71	0.053	50.94	0.021	0.039	1.40	1.056	0
37	20.2	3.72	0.044	84.74	0.018	0.031	0.81	1.056	0
38	34.4	3.54	0.078	44.98	0.016	0.036	1.32	0.999	0

Tab. 17:

Lactatkonzentrationen im Serum [mmol/l]

a) nach 90 Minuten			b) nach 4 Stunden		
NaCl	Nativ	Toxin	NaCl	Nativ	Toxin
1.78	2.26	1.64	4.46	3.30	1.70
1.88	1.66	4.38	2.97	6.27	1.31
1.65	1.31	2.52	1.26	2.27	5.09
1.82	2.14	2.57	1.53	4.29	5.63
0.72	2.75	1.93	0.81		5.43
	3.06	2.19			

D. Diskussion

Vier Stunden nach der intravenösen Injektion des Verbrennungstoxins findet sich in der Leber ein - gemessen an dem Glucosewert der Kontrollgruppe - nur geringfügiger Abfall der Glucose (Abb. 9). Bezieht man in dieser Stoffwechselsituation den signifikant angestiegenen ATP-Wert (Abb. 15), den erniedrigten Lactat/Pyruvat-Quotienten (Abb. 12) sowie den gegenüber dem Kontrollwert kaum veränderten Lactatgehalt (Abb. 10) in die Überlegungen mit ein, so ergeben sich kaum Hinweise auf den Ablauf eines Schockgeschehens.

Dagegen fand BIHR (1977) in der Muskulatur zu diesem Zeitpunkt eine Stoffwechsellage vor, die den Ablauf eines Schocks wahrscheinlich macht:
Die Zentralisation des Blutkreislaufes im Schock führt in der Peripherie zu einem relativen Sauerstoffmangel, welcher die Phosphofructokinase stimuliert; Glucose-6-phosphat nimmt trotz gesteigerter Glycogenolyse ab (REGEN et al. 1961). Für einen Sauerstoffmangel in der Peripherie sprechen der Anstieg des Lactat/Pyruvat-Quotienten und die Abnahme von ATP im Muskel. Die durch den relativen Sauerstoffmangel im Muskel hervorgerufene Aktivierung der Phosphofructokinase erklärt ebenfalls die Abnahme der Glucose sowie den Anstieg von Fructose-1.6-P_2 und DAP.

Unter der Annahme eines Schockgeschehens ist die Glucoseabnahme in den Leberzellen unerklärlich. Im Schock ist in der Muskulatur und im Fettgewebe, vor allem aber in der Leber mit einer erhöhten

Glycogenolyse zu rechnen. Bei freier Diffusion von Glucose durch die Leberzelle und bei ausreichender Sauerstoffversorgung ist im Schock ein zum Blutzuckergehalt paralleler Anstieg der Glucose zu erwarten. Im Gegensatz zu diesen Überlegungen weist jedoch der in der Leber 4 Stunden nach Gabe des Verbrennungstoxins gemessene Glucosewert einen Abfall auf.

VAN DE LOO (1976) fand in der Leber der Ratte eine Stunde nach dem Verbrennungstrauma ebenfalls eine Glucoseabnahme in etwa vergleichbarer Größenordnung. VAN DE LOO postuliert deshalb einen aktiven Transportmechanismus im Schock, so daß eine aktive Glucoseausschüttung gegen ein Konzentrationsgefälle aus der Leber in das Blut stattfindet.

BIHR fand im Rahmen unserer Versuche im Muskel nach 4 Stunden einen Anstieg von F-1.6-P_2 und DAP infolge der Aktivierung der Phosphofructokinase bei relativem Sauerstoffmangel. Der Anstieg des Lactat/Pyruvat-Quotienten und die Abnahme von ATP sprechen für einen Sauerstoffmangel in der Peripherie.

Diese Situation in der Peripherie kann für die Leber nur bedingt zutreffen. Im Schock ist bei Kreislaufzentralisation eine so weitreichende Minderversorgung des Lebergewebes, wie sie in der Muskulatur vorgefunden wird, auszuschließen. Darauf deuten zumindest der signifikante Anstieg des ATP (Abb. 15) und der ebenfalls signifikant gesunkene Lactat/Pyruvat-Quotient (Abb. 12) 4 Stunden nach Toxingabe hin. Der gegenüber den Kontrollwerten nur geringfügig erhöhte Lactatgehalt (Abb. 10) in der Leber ist unter der Annahme eines Schockgeschehens verwunderlich. In dieser Situation ist mit einer vermehrten Abgabe von

Lactat aus dem Muskel an das Blut und dessen Weiterverarbeitung in der Leber (Cori-Zyklus) zu rechnen. Da jedoch weitere Messwerte z.B. nach 2 oder 12 Stunden nicht vorliegen, ist aus den gemessenen Werten nicht ersichtlich, ob das Lactat in der Leber fällt oder ansteigt.

Es darf davon ausgegangen werden, daß die vierstündige Narkose mit Pentobarbital einen nicht unerheblichen Einfluß (vgl. S. 27) auf das Stoffwechselgeschehen hat: Pentobarbital wirkt glycolytisch; eine Hemmung der Gluconeogenese erfolgt relativ rasch (SCHOLZ et al. 1966).

Der Pyruvatgehalt in der Leber ist 4 Stunden nach der Toxingabe signifikant erhöht (auf die besondere Rolle des Pyruvates im Stoffwechsel wird später genau eingegangen).
Der geringfügige Anstieg des Lactat, der Abfall der Glucose sowie der Anstieg von F-1.6-P_2 und DAP (Abb. 13 und 14) sind auf eine zu diesem Zeitpunkt aktivierte Phosphofructokinase zurückzuführen. 4 Stunden nach i.v. Injektion des Verbrennungstoxins findet sich also eine etwas verstärkte glycolytische Tätigkeit in der Leber.
Der signifikante Abfall des Lactat/Pyruvat-Quotienten und des ADP (Abb. 16) sprechen ebenso wie der signifikant erhöhte ATP-Gehalt (Abb. 15) für eine gute Versorgung mit Sauerstoff.

Die Veränderungen des Stoffwechsels 4 Stunden nach der Gabe von Verbrennungstoxin und Nativprotein gleichen sich, abgesehen von einigen minimalen Konzentrationsunterschieden bei einzelnen Messwerten.
Die vorgefundenen Ergebnisse sprechen für eine etwas

verstärkte glycolytische Aktivität in der Leber. Aussagen über den Beginn oder den Ablauf eines Schockgeschehens lassen sich anhand der in der Leber vorgefundenen Stoffwechselsituation nur schwer machen. Der geringfügige Lactatanstieg sowie der Glucoseabfall sind zumindest unter diesem Aspekt schwer einzuordnen.

BIHR (1977) kommt hinsichtlich der Situation in der Peripherie (4 Stunden nach Injektion des Toxins bzw. Nativproteins) zur Auffassung, daß das Toxin und das Nativprotein einen Schock bewirken und damit die periphere Durchblutung verringern. Denkbar ist weiterhin, daß es in der Peripherie zu Mikrothromben und damit zur Minderdurchblutung kommt. Bei den meisten Tieren wurden nach i.v. Injektion von Toxin und Nativprotein Thromben im rechten Vorhof, in der rechten Kammer und teilweise auch in den Lungenarterien gefunden (Abb. 7 und 8).

24 Stunden nach Gabe des Verbrennungstoxins hat sich die Stoffwechselsituation in der Leber entscheidend geändert:
Die Glucosekonzentration ist von 13 µmol (Kontrollgruppe) bzw. 8 µmol (4 Stunden nach Toxingabe) auf 29 µmol angestiegen (Abb. 9). Auch hier bleibt festzuhalten, daß der nach 24 Stunden gemessene Wert - das trifft auch für die anderen Parameter zu - keine Auskunft darüber abgeben kann, ob der Glucosegehalt nach 24 Stunden Ausdruck eines noch steigenden oder etwa schon fallenden Glucosegehaltes in der Leberzelle ist. Rechnet man unter der Annahme einer freien Glucosediffusion in die Leberzellen den Blutzuckerge-

halt aus, so steigt der Blutglucosegehalt von 250 mg% bei der Kontrollgruppe auf 520 mg% Glucose bei dem Verbrennungstoxin. Der Blutglucoseanstieg 4 Stunden nach der Toxingabe zu dem Glucosewert nach 24 Stunden beträgt dann sogar 380 mg%.

Dieser hohe Anstieg von Glucose in der Leber ist als Anzeichen eines relativen Insulinmangels zu verstehen, welcher in der Peripherie zu einer verminderten Glucoseaufnahme in die Zellen führt. In der Leber führt die Katecholamin-bedingte Aktivierung von cyclo-AMP zum Glycogenabbau und ist damit für den Glucoseanstieg mitverantwortlich. Während sich 4 Stunden nach der Toxingabe in der Leber noch keine wesentlichen Stoffwechselveränderungen abzeichneten, so hat der Stoffwechsel 24 Stunden nach der Toxininjektion eine erhebliche Steigerung erfahren.

Neben den Katecholaminen (vgl. Abb. 2) spielen in dieser Phase vermutlich auch die Glucocorticoide und das Glukagon eine wesentliche Rolle. Die NNR-Hormone bewirken in der Peripherie den Abbau von Lipiden und Protein, in der Leber eine Gluconeogenese aus Aminosäuren und somit einen Anstieg von Glucose im Blut. Das Glukagon steigert in der Leber die Glycogenolyse; in der Peripherie werden unter Glukagoneinfluß Lipide und Proteine abgebaut.

Trotz normaler oder sogar erhöhter Insulinspiegel besteht ein relativer Insulinmangel, weil die genannten Hormone als Insulinantagonisten wirksam werden. Dieses Verhalten bezeichnet man als "burn stress pseudodiabetes" (ARNEY 1960) bzw. auch als Insulinresistenz (vgl. S. 13).

BIHR (1977) fand bei unseren Versuchen 24 Stunden nach der Toxingabe einen Anstieg der intrazellulären Glu-

cose im Muskel. Die Zunahme der intrazellulären Glucose führt BIHR auf eine gesteigerte Glycogenolyse infolge vermehrter Katecholaminausschüttung - bei relativer Hemmung der Phosphofructokinase - sowie auf einen erzwungenen Glucosetransport in die Zelle bei relativem Insulinmangel zurück.

Es darf davon ausgegangen werden, daß die Aktivität der Phosphofructokinase in der Leber, die 4 Stunden nach der Toxinapplikation gesteigert erschien, 24 Stunden nach i.v. Injektion des Toxins eher gehemmt ist: Der Abfall des F-1.6-P_2, der in etwa konstant gebliebene DAP-Spiegel sowie das Absinken des Lactat- und Pyruvatgehaltes (Abb. 10, 11, 13 und 14) sind Folge einer Aktivitätsminderung der Phosphofructokinase infolge der diabetischen Stoffwechsellage.

Festzuhalten sind die Untersuchungen von KALKHOFF (KALKHOFF et al. 1966), in denen durch Messungen der Metabolitgehalte der Glycolyse in der Rattenleber bei Diabetes festgestellt wurde, daß beim akuten Insulinmangel Glucose in der Zelle zunimmt, F-1.6-P_2, DAP, Lactat und Pyruvat abnehmen. Beim chronischen Insulinmangel traten abgesehen von einer Zunahme des Lactatgehaltes die gleichen Veränderungen auf. Die Glycolyse wird also beim akuten Insulinmangel am PFK-Schritt gehemmt.

Auf die besondere Rolle des Pyruvates innerhalb des Stoffwechsels soll kurz eingegangen werden. Der Pyruvatgehalt ist bzw. kann Ausdruck für mehrere gleichzeitig stattfindende Vorgänge sein (VAN DE LOO 1976):

1. Für eine gesteigerte Gluconeogenese mit beschleunigter Umwandlung von Pyruvat in Oxalacetat und in

Phosphoenolpyruvat.
2. Für eine erhöhte Fettsäureoxidation mit ausgeprägter Ketonkörperbildung, wobei mehr aktivierte Essigsäure anfällt, als im Krebszyklus verwertet werden kann (HÜBNER et al. 1974).
3. Für eine herabgesetzte Geschwindigkeit des Krebszyklus. Diese ist durch einen Mangel an Oxalacetat, der auf einem hohen Umsatz in der Gluconeogenese beruht, bedingt. Bei intrazellulärem Glucosemangel (Hunger, Diabetes) ist infolge gesteigerter Gluconeogenese die Aktivität der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase erhöht, was zu einem Abfall von Oxalacetat führt, das nun als Acceptor für die Citratbildung nur noch in vermindertem Maße zur Verfügung steht. Da somit Acetyl-CoA nur noch vermindert in den Citrat-Zyklus eingeschleust werden kann, staut es sich an (SCHULZE und KAFFARNIK 1970). Langkettige Acyl-CoA-Verbindungen, die aus dem vermehrten Abbau der Fettsäuren resultieren, führen zu einer Hemmung der Citrat-Synthetase (SRERE 1965, TUBBS 1963, WIELAND und WEISS 1963, WIELAND et al. 1965). Ebenso kann die Citrat-Synthetase durch Acetoacetyl-CoA, NADH (SRERE und MATSUOKA 1972) und durch hohe ATP-Konzentrationen (HATHAWAY und AKTINSON 1963, SHEPARD und GARLAND 1966) gehemmt werden.
4. Für den Alanyl-Zyklus von CAHILL (1970).

Inwieweit in dieser Situation 24 Stunden nach der Injektion des Verbrennungstoxins gluconeogenetische Prozesse eine Rolle spielen, kann in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden, da das Phosphoenolpyruvat und das 3-P-Glycerat nicht gemessen wurden. Bei der Gluconeogenese unter chronischem Insulinmangel

ist die Reaktion zwischen der Umwandlung von 3-P-Glycerat und DAP der geschwindigkeitsbestimmende Schritt (KALKHOFF et al. 1966). Es ist jedoch wahrscheinlich, daß unter dem Einfluß von Hormonen wie den Katecholaminen, den Glucocorticoiden und dem Glukagon zu diesem Zeitpunkt vermehrt gluconeogenetische Prozesse ablaufen.
Wie erwähnt, werden bei der Gluconeogenese mindestens 3 energiereiche Phosphatverbindungen gespalten, deswegen ist bei gluconeogenetisch aktiven Organen mit einer hohen ATP-Bildungsrate zu rechnen.

Der ATP-Gehalt bleibt in der Leber auch 24 Stunden nach der Verabreichung des Toxins hoch. Der hohe ATP-Gehalt, aber auch der erniedrigte ADP-Wert und der weiterhin unter dem Kontrollwert liegende Lactat/Pyruvat-Quotient sprechen nicht für einen Sauerstoffmangel.

Es muß jedoch die Frage offen bleiben, ob es zu einer Erschöpfung der Energievorräte kommt oder ob der Organismus in der Lage ist, sich wieder zu erholen.

24 Stunden nach Gabe des Verbrennungstoxins finden wir einen gesteigerten Stoffwechsel mit vermehrtem Angebot an energiereichen Substanzen, wie wir es auch bei Infektionen (GROVES et al. 1973), nach operativen Eingriffen (STREMMEL 1973/74), bei Hypoxie (PORTE et al. 1973) und anderen Formen des Stresses finden. Neben den Katecholaminen spielen in dieser Phase vermutlich auch die Glucocorticoide und das Glukagon eine wesentlich Rolle. Diese Hormone werden als Insulinantagonisten wirksam.

24 Stunden nach i.v. Injektion von Nativprotein erscheinen fast alle Parameter im Normbereich der

Kontrollgruppe. Die Stoffwechselverhältnisse in der Leber haben sich allem Anschein nach normalisiert.

E. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel der Leber von Kaninchen nach intravenöser Injektion eines Apoproteins aus verbrannter Haut (Toxin) und aus unverbrannter Haut (Nativprotein) untersucht.

4 bzw. 24 Stunden nach der Injektion des Toxins respektive Nativproteins wurden einer bestimmten Anzahl von Tieren mit der Gefrierstoppzange jeweils 2 Muskelstücke (BIHR 1977) sowie 2 Gewebeproben aus der Leber entnommen.

Als Kontrolltiere dienten Kaninchen, denen NaCl (0.9%) intravenös injiziert wurde.

Bei sämtlichen Tieren dauerte die Pentobarbitalnarkose 4 Stunden.

Aus den Gewebeproben wurden folgende Metaboliten bestimmt:

Glucose, Fructose-1.6-P_2, Dihydroxyacetonphosphat, Lactat, Pyruvat, Adenosintriphosphat, Adenosindiphosphat und Adenosinmonophosphat.

Die Stoffwechselvorgänge in der Leber sind 4 Stunden nach der Toxin- bzw. Nativproteininjektion tendenziell gleich und nicht besonders ausgeprägt; sie sprechen für eine gesteigerte Glycolyse. Ob die Stoffwechselsituation in der Leber zu diesem Zeitpunkt den Beginn eines Schockgeschehens darstellt, wie dies die Verhältnisse in der Muskulatur (BIHR) nahelegen, kann nicht eindeutig geklärt, muß aber vermutet werden.

24 Stunden nach der Gabe von Verbrennungstoxin findet sich in der Leber ein erheblich gesteigerter Stoffwechsel mit vermehrtem Angebot an energiereichen

Substraten, wie es auch bei anderen Formen des Stresses zu beobachten ist. Unter Katecholamineinfluß kommt es bei diabetischer Stoffwechsellage zu einer Mobilisierung der Energiereserven.

Der in dieser Arbeit zu beobachtende Hypermetabolismus stellt vermutlich die Reaktion des Organismus auf eine generalisierte Membranschädigung dar, welche durch die Verbrennungstoxine hervorgerufen ist.

24 Stunden nach der Injektion von Nativprotein befinden sich fast alle Parameter im Normbereich der Kontrollgruppe. Die Stoffwechselsituation hat sich allem Anschein nach normalisiert.

F. Abkürzungen

ABTS = Diammoniumsalz der 2.2`-Azino-di-3-äthylbenzthiazolinsulfonsäure-(6)
ADP = Adenosindiphosphat
AMP = Adenosinmonophosphat
ATP = Adenosintriphosphat
DAP = Dihydroxyaceton-phosphat
EDTA = Äthylendiamintetraessigsäure
FFS = freie Fettsäuren
FG = Frischgewicht
$F\text{-}1.6\text{-}P_2$ = Fructose-1.6-diphosphat
GAP = Glycerinaldehyd-phosphat
GAPDH = Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase
GDH = Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase
GK = Glucokinase
GOD = Glucose-Oxydase
G-6-P = Glucose-6-phosphat
KG = Körpergewicht
LDH = Lactatdehydrogenase
MDH = Malatdehydrogenase
$NADH_2$ = $NADH + H^+$ = reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid
PDH = Pyruvatdehydrogenase
PFK = Phosphofructokinase
PGK = Phosphoglyceratkinase
PK = Pyruvatkinase
POD = Peroxydase
TIM = Triosephosphatisomerase

G. Literaturverzeichnis

1. Adam, H.: in: H.U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse, Verlag Chemie, Weinheim 2. Auflage, Bd. II, 2051 (1970).
2. Aikawa, N., J.B. Caulfield, R.J.S. Thomas, J.F. Burke: Postburn hypermetabolism: Relation to evaporative heat loss and catecholamine level. Surg. Forum 26, 74-76 (1975).
3. Alexander, J.W., M.W. Fisher, B.G. MacMillan: Immunological control of pseudomonas infection in burn patients. A clinical evaluation. Arch. Surg. 102, 31-35 (1975).
4. Allgöwer, M., G.A. Schoenenberger: Problems of severely burned patients. Bull. Soc. Int. Chir. 32, 287 (1973).
5. Allison, S.P., P. Hinton, M.J. Chamberlain: Intravenous glucose-tolerance, insulin and free fatty-acid levels in burned patients. Lancet 1968 II, 113-116.
6. Arney, C.K., E. Pearson, A.B. Sutherland: Burn stress pseudodiabetes. Ann. Surg. 152, 1, 77-90 (1960).
7. Arturson, G.: Pathophysiological aspects of the burn syndrom, with special reference to liver injury and alterations of capillary permeability. Acta Chir. Scand. Suppl. 274, 135 (1961).
8. Aspin, A.A.: Tables for use in comparison whose accuracy involves two variances, separately estimated. Biometrika 36, 290-293 (1949).

9. Aynsley-Green, A., J.F. Biebuyck, K.G.M.M. Alberti: Anaesthesia and Insulin secretion: the effects of diethylether, halothane, pentobarbitone sodium and ketamine hydrochlorid on intravenous glucose tolerance and insulin secretion in rat.
Diabetologia 9, 274-281 (1973).

10. Bailey, B.N.: Hyperglycaemia in burns.
Brit. med. J. 1960 II, 1783- 1785.

11. Bailey, C.J., T.W. Atkins, A.J. Matty: Some preliminary observations concerning carbohydrate metabolism during prolonged pentobarbitone anaesthesia.
J. Endocrinology 64(3), 60P-61P (1975).

12. Batstone, G.F., L. Hinks, R. Whitefoot, S. Bloom, J.E. Laing, K.G.M.M. Alberti: Hormonal changes after thermal injury.
J. Endocrinology 68(3), 38P-39P (1976).

13. Bauer, F.E.: Untersuchungen des Fettstoffwechsels nach experimenteller Verbrennung.
Inaugural-Dissertation 1977, Tübingen.

14. Baxter, C.R.: The current status of burn research.
J. Trauma 14, 1-8 (1974).

15. Baxter, C.R., W.A. Cook, G.T, Shires: Serum myocardial depressant factor of burn shock.
Surg. Forum 17, 1 (1966).

16. Baxter, C.R., J.A. Moncrief, M.D. Prager, L.S. Cohen: A circulating myocardial depressant factor in burn shock. in: P. Matter, T.L. Barclay, Z. Konickova: Research in burns; Bern, Stuttgart, Vienna:
Huber 1971, 499-502.

17. Benke, A.: Der Einfluß einiger i.v.- Narkotika auf Glucosespiegel und Säure-Basenstatus des Blutes alloxandiabetischer Ratten.
Der Anaesthesist 20, 348-354 (1971).

18. Bihr, F.: Inaugural-Dissertation, Tübingen (in Vorbereitung).

19. Birke, G., L.A. Carlson, S.-O. Liljedahl: Lipid metabolism and trauma: III. Plasma lipids and lipoproteins in burns.
Acta Med. Scand. 178, 337-350 (1965).

20. Birke, G., H. Dunner, S.-O. Liljedahl, B. Pernow, L.O. Plantin, L. Troell: Histamine, catecholamines and adrenocortical steroids in burns.
Acta Chir. Scand. 114, 87-98 (1957).

21. Blair, J.B., M.A. Cimbala, J.L. Foster, R.A. Morgan: Hepatic pyruvate kinase. Regulation by Glucagon, cyclic adenosine 3,5 monophosphate and insulin in the perfused rat liver.
J. biol. Chem. 251, 12, 3756-3762 (1976).

22. Bremer, J. and A.B. Wojtczak: Factors controlling the rate of fatty acid beta-oxidation in rat liver mitochondria.
Biochim. biophys. Acta (Amst.) 280, 515-530 (1972).

23. Brobeck, J.R., in: Fulton, J.F.: A textbook of physiology, ed. 17 Philadelphia: Saunders 1955.

24. Bücher, T.: Über ein Phosphatübertragendes Gärungsferment.
Biochim. biophys. Acta (Amst.) 1, 292-314 (1947).

25. Cahill, G.F.: Starvation in man.
New Engl. Med. 282, 668-675 (1970).

26. Cahill, G.F., J. Ashmore, A.E. Renold, A.B. Hastings: Blood glucose and the liver. Amer. J. Med. 26, 264-282 (1959).

27. Cavalli-Sforza, L.: Biometrie. Grundzüge biol.-med. Statistik. 3. Auflage, Fischer Stuttgart 1972.

28. Cueni, L.B., G.A. Schoenenberger, M. Allgöwer: Further chemical and physical characterisation of a lipoprotein derived from mouse skin. Experientia (Basel) 26, 685-687 (1970).

29. Cueni, L.B., M. Allgöwer, G.A. Schoenenberger: Isolierung und physikalisch-chemische Charakterisierung eines Verbrennungstoxins aus der Mäusehaut. Res. exp. Med. 156, 110-128 (1971).

30. Czok, R., W. Lamprecht: in H.U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Aufl., Bd. II, Verlag Chemie Weinheim 1974, 1491.

31. Davidson, M.B.: Studies on the mechanism of pentobarbital-induced glucose intolerance. Hormon. Metabol. Res. 3, 243-247 (1971).

32. Delorme, M.: Hemmung der Insulinwirkung durch die freien Fettsäuren beim Hund. Klin. Wschr. 43, 729-732 (1965).

33. Denton, R.M., P.J. Randle: Citrate and the regulation of adipose tissue phosphofructokinase. Biochem. J. 100, 420-423 (1966).

34. Dolecek, R., W. Mahaffey: The uncoupling phenomenon and metabolic blocks after burns. Acta Chir. plast. (Praha) 12, 217-222 (1970).

35. Dolecek, R., D. Buryskova, M. Buse, Z. Konickova, D. Kuperminc, W. Mahaffey, M. Zavada: Metabolic and morphologic response after burns: impairment of energy metabolism and therapeutic possibilities. In: P. Matter, T.L. Barclay, Z. Konickova: Research in burns. Bern, Stuttgart, Vienna: Huber 1971, 535-541.

36. Droste, O.: Inaugural-Dissertation, Tübingen (in Vorbereitung).

37. Engel, L.E.: The significance of the metabolic changes during shock.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 55, 381-392 (1952).

38. Fedorov, N.A., S.V. Shrkovich: Immunotherapy of burn sickness. In: Research in burns, p. 266, C.P. Artz, Ed. Oxford: Blackwell Sci. Publ. (1962).

39. Fedorov, N.A., B.E. Movshev, R.W. Nedoschiwina, W.N. Petrov, W.I. Awertschenko: Isolierung und Untersuchung toxischer Fraktionen verbrannter Haut.
Vopr. med. chim. 20, H 4, 371-375 (1974).

40. Feller, J., C.R. Pierson: Pseudomonas vaccine and hyperimmune plasma for burned patients.
Arch. Surg. 97, 225-234 (1968).

41. Feller, J., C.R. Pierson: A reduction of pseudomonas septicaemia in burned patients by the immune process.
Surg. Clin. N. Amer. 50, 1377-1383 (1970).

42. Förster,H., H. Mehnert: Kohlenhydratstoffwechsel, in: Siegenthaler: Klinische Pathophysiologie, 3. Auflage, Stuttgart: Thieme 1970.

43. Franke, H.: Manuskript und Vortrag. Stilfibel für Mediziner, 2. Aufl. Stuttgart: Thieme 1969.

44. Furner, R.L., E.D. Neville, K.S. Talarico, D.D. Feller: Effects of pentobarbital on plasma glucose and free fatty acids in rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 139, 231-234 (1972).

45. Green, H.D., C.E. Rapela: Neurogenic and autoregulation of the resistance and capacitance components of the peripheral vascular system, in. L.C. Mills, J.H. Moyer: Shock and hypotension, New York: Grune and Stratton 1965.

46. Greuer, W.: Zur Pathophysiologie und Therapie der Verbrennungskrankheit. Beitr. klin. Chir. 198, 257-283 (1970).

47. Groves, A.C., J. Griffiths, F. Leung, R.N. Meek: Plasma catecholamines in patients with serious postoperative infection. Ann. Surg. 178, 102 (1973).

48. Harrison, H.N., J.A. Moncrief, J.W. Duckett, A.D. Mason: The relationship between energy metabolism and water loss from vaporization in severely burned patients. Surgery 56, 203-211 (1964).

49. Hathaway, J.A., D.E. Aktinson: Kinetics of regulatory enzymes: Effect of adenosine triphosphate on yeast citrate synthase. Biochem. biophys. Res. Commun. 20, 661-665 (1963).

50. Hers, H.G., H. de Wulf, W. Stalmans, G. van den Berghe: The controll of glykogen synthesis in the liver. Adv. Enzym. Reg. 8, 171-190 (1970).

60. Jones, R.J., E.H. Lowbury: Antiserum and antibiotic in the prophylaxis against Pseudomonas aeruginosa.
In: A.B. Wallace, A.W. Wilkinson: Research in burns, Edinburg: Livingstone 1966, 474-485.

61. Kalkhoff, R.K., K.R. Hornbrook, H.B. Burch, D.M. Kipnis: Studies of the metabolic effects of acute insulin deficiency.
Diabetes 15, 451-456 (1966).

62. Keller, A.D.: Hypothermia in the anaesthetised poikilodermic dog, in: The physiology of induced hypothermia, National Research Council Publication 1956.

63. Kernahan, D.A.: Recent and current trends in burn research and treatment.
Canad. med. Ass. J. 97, 433-439 (1967).

64. Kleiber, M.: The fire of life, New York: Wiley 1961.

65. Koslowski, L.: Autolyse-Krankheiten in der Chirurgie, Stuttgart: Thieme 1959.

66. Koslowski, L.: Der Wandel der Infektion als Krankheitsfaktor und Todesursache nach Verbrennungen.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 304, 672-675 (1963).

67. Koslowski, L.: Zur Pathophysiologie und Allgemeinbehandlung schwerer Verbrennungen - neuere Einsichten und Erfahrungen.
Chirurg 41, 385-390 (1970).

68. Koslowski, L.: Die Pathophysiologie der Verbrennungskrankheit im Lichte neuerer Forschungsergebnisse.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 329, 880-888 (1971).

69. Krizek, Th.J., D.V. Cossman: Experimental burn wound sepsis; variations to response to topical agents.
J. Trauma, 12, 553 (1972).

70. Kukral,J.C., W.C. Shoemaker: The metabolic sequelae of burn trauma.
Surg. Clin. N. Americ. 50, (6), 1211-1216 (1970).

71. Lea, M.A., G. Weber: Role of enzymes in homeostasis. Inhibition of the activity of glycolytic enzymes by free fatty acids.
J. biol. Chem. 243,6, 1096-1102 (1968).

72. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae: A possible role for the adenylcyclase system in insulin secretion.
J. clin. Invest. 46, 1724-1734 (1967).

73. Mansor, T.E., M.E. Clague, K.D. Beanik: Effect of cyclic 3,5-AMP on heart phosphofructokinase.
Fed. Proc. 21,238 (1962).

74. Marquez-Julio, A., I.W. French: The effect of ether, pentobarbital, and decapitation on various metabolites of rat skeletal muscle.
Can. J. Biochem. 45, 1323-1327 (1967).

Maskos, E.: Inaugural-Dissertation, Tübingen (in Vorbereitung).

Michal, G., H.-O. Beuttler: in H.U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie 1974, 1359.

Michaelis, D.: Neue Erkenntnisse zur Pathophys[illegible] der Zuckerkrankheit.
[illegible]h. Ges. wes. 23, 246-252 (1968).

78. Migone, L.: Metabolic aspects of shock, in: K.D. Bock (ed.): Shock: Pathogenesis and therapy. Berlin: Springer 1962.

79. Morgan, H.E., E. Cadenas, D.M. Regen, C.R. Park: Regulation of glucose uptake in muscle: II. Rate-limiting steps and effects of insulin and anoxia in heart muscle from diabetic rats. J. biol. Chem. 236, 262-268 (1961a).

80. Morgan, H.E., D.M. Regen, M.J. Henderson, T.K. Sawyer, C.R. Park: Regulation of glucose uptake in muscle. IV. Effects of hypophysectomy, adrenalectomy, growth hormone, hydrocortisone and insulin on glucose transport and phosphorylation in the perfused rat heart. J. biol. Chem. 236, 2162-2168 (1961b).

81. Movshev, B.E.: Fraktionierung von Eiweißstoffen aus normaler und verbrannter Haut mittels Gelfiltration. Patol. Fiziol. Eksp. Ter. 145, 37-41 (1971).

82. Moyer, C.A., in: C.P. Artz (ed.): Research in burns, Washington: American Institute of Biological Sciences 1962.

83. Müller, F.E.: Schwere Verbrennungen. Unfallheilkunde 87, 121-130 (1965).

84. Newsholme, E.A., P.J. Randle: Regulation of glucose uptake by muscle. Effects of fatty acids, ketone bodies, pyruvate, and of alloxan diabetes, starvation, hypophysectomy and adrenalectomy on the concentrations of hexose phosphates, nucleotides and inorganic phosphate in the perfused rat heart. Biochem. J. 93, 641-651 (1964).

85. Ngai, S.H., E.M. Papper in: Thomas: Metabolic effects of anaesthesia, Illinois: 1962.

86. Passoneau, J.V., O.H. Lowry: Phosphofructokinase and the pasteur effect.
Biochem. biophys. Res. Comm. 7, 10-15 (1962).

87. Passoneau, J.V., O.H. Lowry: The role of the phosphofructokinase in metabolic regulation.
Adv. Enzym. Regul. 2, 265-274 (1964).

88. Pessacq, M.T., O.R. Rebolledo, J.J. Gagliardino: Day-time dependence of the serum free fatty acids, glucose and immunoreactive insulin levels.
Acta Physiol. lat.-amer. 22, 187-189 (1972).

89. Pogson, C.I., P.J. Randle: The control of rat-heart phosphofructokinase by citrate and other regulators.
Biochem. J. 100, 683-693 (1966).

90. Porte, D.: A receptor mechanism for the inhibition of insulin release by epinephrine in man.
J. clin. Invest. 46, 86-94 (1967).

91. Porte, D., A. Graber, L. Kuzuya, R.H. Williams: The effect of epinephrine on immunoreactive insulin levels in man.
J. clin. Invest. 45, 228-236 (1966).

92. Pruitt, B.A., J.A. Moncrief: Current trends in burn research, Part.II.
J. surg. Res. 7, 332-347 (1967).

93. Ramadoss, C.S., K. Uyeda, J.M. Johnston: Studies on the fatty acid inactivation of phosphofructokinase.
J. Biol. Chem. 251, 1, 98-107 (1976).

94. Randle, P.J., P.B. Garland, C.N. Hales, E.A. Newsholme: The glucose fatty acid cycle, its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet 1963 I, 785-789.

95. Regen, D.M., W.W. Davis, H.E. Morgan: Regulation of hexokinase activity in muscle: effects of diabetes and anoxia on hexose phosphate levels. Fed. Proc. 20, 83 (1961).

96. Regen, D.M., W.W. Davis, H.E. Morgan, C.R. Park: The regulation of hexokinase and phosphofructokinase activity in heart muscle. J. biol. Chem. 239, 43-49 (1964).

97. Roe, C.F., J.M. Kinney, C. Blair: Water and heat exchange in third-degree burns. Surgery 56, 212-220 (1964).

98. Rosenthal, S.R., P.L. Hawley, A.A. Hakim: Purified burn toxic factor and its competitin. Surgery 71 (4), 527-536 (1972).

99. Rosenthal, S.R., G.T. Crouse, W.A. Spurrier, K.C. Thadhani: Human "burn toxin" and in-vitro-produced "antitoxin". Ann. N.Y. Acad. Sci. 1968, 792-806.

100. Sachs, A.: Activ immunoprophylaxis in burns with a new multivalent vaccine. Lancet 1970 II, 959-961.

101. Sacks, J.: Insulin and the transport of sugars across cell membranes. J. gen. Physiol. 43, 129-134 (1960).

102. Saur,K., D. Schlosser, L. Schweiberer: Pathophysiologie und Therapie der Verbrennungen. Dtsch. Ärzteblatt 73, 1081-1088 (1976).

103. Schmidt, K.: Habilitationsschrift, Tübingen 1977.

104. Schoenenberger, G.A.: Burn toxin isolated from mouse and human skin. Monogr. Allergy 9, 72-139. Basel: Karger 1975.

105. Schoenenberger, G.A. P. Matter, M. Allgöwer: Isolation of a toxic substance from mouse skin after severe burn. Pharmacological treatments in burns. Proc. Int. Symp., Milan 1968. Excerpta med. Int. Congr. Ser. 190, 119-129 (1969).

106. Schoenenberger, G.A., L.B. Cueni, U. Bauer, U. Eppenberger, M. Allgöwer: Isolation and characterisation of a toxic lipoprotein from germ-free mouse skin. Surg. Forum 21, 515-517 (1970).

107. Schoenenberger, G.A., U. Bauer, L.B. Cueni, U. Eppenberger, M. Allgöwer: Isolation and characterisation of a cutaneous lipoprotein with lethal effect produced by thermal energy in mouse skin. Biochem. biophys. Res. Commun. 42, 975-982 (1971).

108. Schoenenberger, G.A., L.B. Cueni, U. Bauer, U. Eppenberger, M. Allgöwer: Isolation and characterisation of a toxic lipid-protein complex formed in mouse skin by controlled thermal energy. Biochim. biophys. Acta 263, 149-163 (1972).

109. Schoenenberger, G.A., M. Allgöwer, F. Burkhart, W. Müller, K. Städtler, P. Zellner: Pathogenetische Bedeutung eines spezifischen kutanen Verbrennungstoxins für Infektion und Spätmortalität nach schweren Verbrennungen. Zbl. Chirurgie 99, 1089-1097 (1974).

110. Schoenenberger, G.A., M. Allgöwer, B. Kremer, K. Städtler: Neue Gesichtspunkte zum Thema Verbrennungskrankheit. Chirurg 47, 582-585 (1976).

111. Scholz, R., F. Schwarz, T. Bücher: Barbiturate und energieliefernder Stoffwechsel in der hämoglobinfrei durchströmten Leber der Ratte. Z. klin. Chemie 4, 179-188 (1966).

112. Schulze, B., H. Kaffarnik: Biochemische Grundlagen der gestörten Wechselbeziehung zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel bei Diabetes mellitus. Klin. Wschr. 48, 1147-1157 (1970).

113. Schumer, W., J.C. Kukral: Metabolism of shock. Surgery 63, 630-636 (1968).

114. Senf T., R. Sitt, W. Losert, G. Schultz , M. Hoffmann: Hemmung der Insulinsekretion durch alpha-Receptoren stimulierende Substanzen. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 260, 309-312 (1968).

115. Sevitt, S.: Toxaemia of burns. Mod. Trends plast. Surg. 2, 126-149 (1966).

116. Sevitt, S.: Todesfälle nach Verbrennungen. Zbl. Chir. 98, 314-317 (1973).

117. Sharma, C.R., R. Manjeshwar, S. Weinhouse: Hormonal and dietary regulation of hepatic glucokinase.
Adv. Enzyme Regul. 2, 189-200 (1964).

118. Shepard, D., P.B. Garland: ATP controlled acetoacetate and citrate synthesis by rat liver mitochondria oxidising palmitoyl-carnitine, and the inhibition of citrate synthase by ATP.
Biochim. biophys. Res. Commun. 22, 89-93 (1966).

119. Sols, A., A. Sillero, J. Salas: Insulin-dependent synthesis of glucokinase.
J. cell. Comp. Physiol. Suppl. 1 to Vol. 66, 23(1965).

120. Srere, P.A.: Palmityl-CoA inhibition of condensing enzyme.
Biochim. biophys. Acta (Amst.) 106, 445-449.

121. Srere, P.A., Y. Matsuoka: Inhibition of rat citrate synthase by acetoacetyl-CoA and NADH.
Biochem. Med. 6, 262-266 (1972).

122. Städtler, K., M. Allgöwer, L.B. Cueni, G.A. Schoenenberger: Pathophysiologische Untersuchungen an einem Verbrennungsmodell der Maus.
Res. exp. Med. 158, 23 (1972a).

123. Städtler, K., M. Allgöwer, C.B. Cueni, G.A. Schoenenberger: Immuntherapeutische Untersuchungen mit Verbrennungstoxin am Modell der Maus.
Res. exp. Med. 158, 34 (1972b).

124. Stremmel, W.: zur Pathogenese der Kohlenhydratstoffwechselwirkung nach operativen Eingriffen. Infusionstherapie 4, 294-304 (1973/74).

125. Tubbs, P.K.: Inhibition of citrate formation by long-chain acyl thioesters of coenzyme A as a possible control mechanism in fatty acid biosynthesis. Biochim. biophys. Acta (Amst.) 70, 608-609 (1963).

126. Van de Loo, H.-M.: Über den Metabolitgehalt von Glucose, F-1.6-P_2, DAP, GAP, Pyruvat, Lactat und ATP im Muskel, in der Leber, in den Nieren und im Herz der Ratte in der Schockphase nach experimenteller Verbrennung bei 250°C. Inaugural-Dissertation, Tübingen 1976.

127. Viktoria, J.K., A. Baukal, F.W. Wolff: New automated fluorometric methods for estimation of small amounts of adrenaline and noradrenaline. Anal. Biochem. 23, 513 (1968).

128. Welch, A.D.: Interference with biological processes through the use of analogues of essential metabolites. Physiol. Rev. 25, 687-719 (1945).

129. Werner, W., H.-G. Rey, H. Wielinger: Über die Eigenschaften eines neuen Chromogens für die Blutzuckerbestimmung nach der GOD/POD-Methode. Z. analyt. Chem. 252, 224-228 (1970).

130. Wieland, O., L. Weiss: Inhibition of citrate synthase by palmyl-coenzyme A. Biochem. biophys. Res. Commun. 13, 26-31 (1963).

131. Wieland, W., L. Weiss, I. Eger-Neufeldt, A. Teinzer, B. Westermann: Coenzym A-Thioester höherer Fettsäuren als mögliche Vermittler enzymatischer Regulationen im Tierkörper. Klin. Wschr. 43, 645-654 (1965).

132. Wilmore, D.W.: Nutrition and metabolism following thermal injury. Clin. plast. Surg. 1 (4), 603-619 (1974).

133. Wilmore, D.W., J.M. Long, A.D. Mason, R.W. Skreen, B.A. Pruitt: Catecholamines: Mediator of the hypermetabolic response to thermal injury. Ann. Surg. 180 (4), 653-669 (1974).

134. Wollenberger, A., O. Ritau, G. Schoffa: Eine einfache Technik der extrem schnellen Abkühlung größerer Gewebsstücke. Pflügers Arch. ges. Physiol. 270, 399-412 (1960).

135. Zawacki, B.E., W. Spitzer, A.D. Mason, L.A. Johns: Does increased evaporative water loss cause hypermetabolism in burned patients? Ann. Surg. 171, 236-240 (1970).

Frl. Hauck, Frl. Jobbagi und Frau Wundt danke ich für die technische Assistenz bei der Durchführung der Analysen, Frl. Steinbauer für die Isolierung und Aufarbeitung der toxischen Substanzen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Priv.Doz.Dr. Dr. K.Schmidt: Für die Überlassung des Themas, die jederzeit hilfreiche Betreuung und die zahlreichen Anregungen zur Durchführung der Experimente und zur Abfassung der Arbeit.

Lebenslauf

Michael Meyer

4. Okt. 1953	geboren in Nürnberg als Sohn des Pfarrers Heinrich Meyer und seiner Ehefrau Irmgard, geb. Ostertag.
1960-1964	Besuch der Volksschule in Nürnberg
Sept. 1964	Übertritt in das humanistische Melanchthon-Gymnasium Nürnberg
8. Juni 1973	Reifeprüfung des Melanchthon-Gymnasiums
1. Okt. 1973	Beginn des Medizinstudiums an der Universität Erlangen
26.Aug. 1975	Ärztliche Vorprüfung in Erlangen
1. Okt. 1975	Fortsetzung des Medizinstudiums an der Universität Tübingen
31.Aug. 1976	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
15.März 1979	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 1979	Beginn des Praktischen Jahres im Krankenhaus Stuttgart-Bad Cannstatt Wahlfach: Dermatologie
April 1980	3.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10. 4. 1980	schriftlicher Teil in Reutlingen
21. 4. 1980	mündlicher Teil in Stuttgart